

R1

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>6</sup>

G01N 21/07

B01L 3/00 G01N 33/487

## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96199871.7

[43]公开日 1999年2月17日

[11]公开号 CN 1208464A

[22]申请日 96.12.5 [21]申请号 96199871.7

[30]优先权

[32]95.12.5 [33]US[31]60/008,215

[32]95.12.6 [33]US[31]60/008,267

[32]95.12.18 [33]US[31]60/008,819

[32]96.8.12 [33]US[31]60/023,756

[86]国际申请 PCT/US96/19514 96.12.5

[87]国际公布 WO97/21090 英 97.6.12

[85]进入国家阶段日期 98.8.4

[71]申请人 盖默拉生物科学公司

地址 美国马萨诸塞州

[72]发明人 亚力克·梅恩

斯蒂芬·G·基弗 - 希金斯

乔治·D·科里

[74]专利代理机构 柳沈知识产权律师事务所

代理人 巫肖南

权利要求书 9 页 说明书 61 页 附图页数 64 页

[54]发明名称 利用向心加速度以激发具有自有资讯微型  
流态系统之中的液体运动的装置和方法

[57]摘要

本发明涉及用于进行微量分析和微量合成各种化验和操作的装置和方法。本发明提供了一种微型系统平台和一种用于操作此平台的微型操作装置,利用由于平台转动所产生的向心力来驱动通过各微型槽道的液体运动。本发明的各种微型系统平台也设置得具有编码在盘片的对置于包含各液态部件的表面的表面上 的系统资讯和数据获取、分析以及储存和检索资讯。本发明设备所特有的、用于进行任一种广为多样的微量分析或微量合成过程的方法在此也予以提供。

## 权 利 要 求 书

1. 一种依靠向心作用驱动的微型操作设备, 其组成如下:

5 微型系统平台, 包括基底, 其具有第一平坦平面表面和与之对置的第二平坦平面表面, 其中第一表面包括许多埋置于其中的微型槽道和样品输入装置, 其中样品输入装置和微型槽道是连接起来的并处于流态接触, 以及其中对置于平台第一平坦平面表面的第二平坦平面表面以一组以电磁可读方式指令予以编码, 用于控制转速、持续时间或平台方向, 以及

10 微型操作装置, 包括底基、转动装置、供电和用户界面, 以及操作控制装置, 其中转动装置在操作上联接于微型系统平台并与之处于转动接触之中,

其中在平台微型槽道之内的一定容积的流体借助向心力使之移动通过微型槽道, 向心力产生于平台在一段时间里和具有足以使液体移动通过各微型槽道的转动速度的旋转运动。

15 2. 一种依靠向心作用驱动的微型操作设备, 其组成如下:

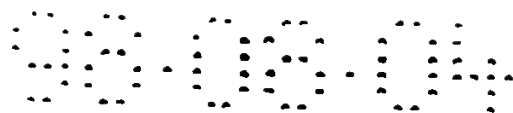
微型系统平台, 包括基底, 具有第一平坦平面表面和与之对置的第二平坦平面表面, 其中第一表面包括埋置于其中的许多微型槽道、反应室和试剂储囊, 以及样品输入装置, 其中样品输入装置、微型槽道、反应室和试剂储囊是连接起来的和处于流态接触, 以及其中对置于平台第一平坦平面表面的第二平坦平面表面以一组电磁可读方式的指令予以编码, 用于控制转速、持续时间或平台方向, 以及

20 微型操作装置, 包括基底, 转动装置、供电和用户界面, 以及操作控制装置, 其中转动装置在操作上联接于微型系统平台并与之处于转动接触之中,

25 其中在平台各微型槽道之内的一定容积的液体借助向心力使之移动通过微型槽道, 向心力产生于平台在一段时间里和具有足以使液体移动通过各微型槽道的转动速度的旋转运动。

3. 一种依靠向心作用驱动的微型操作设备, 其组成如下:

30 微型系统平台, 包括基底, 具有第一平坦平面表面和与之对置的第二平坦平面表面, 其中第一表面包括埋置于其中的许多微型槽道、反应室和试剂储囊, 以及样品输入装置, 其中样品输入装置、微型槽道、反应室和试剂储



囊是连接起来的和处于流态接触之中，而其中出自微型槽道、反应室和试剂储囊的液体运动由与之连接的微型阀门予以控制的，其中对置于第一平坦平面表面的第二平坦平面表面以一组电磁可读方式的指令予以编码，用于控制转速、持续时间或平台方向的以及

- 5 微型操作装置，包括基底，转动装置、供电和用户界面，以及操作控制装置，其中转动装置在操作上联接于微型系统平台并与其处于转动接触之中，

其中在平台各微型槽道之内的一定容积的液体借助向心力使之移动通过各微型槽道，向心力产生于平台在一段时间里和具有足以使液体移动通过各微型槽道的转动速度的旋转运动。

4. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台的第一平坦平面表面和第二平坦平面表面构成一盘片。

5. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台的第一和第二平坦平面表面形成位于中心的孔眼，其啮合于微型操作装置上的心轴，从而心轴的旋转运动被转变为微型系统平台的旋转运动。

6. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台是选自有机材料、无机材料、晶体材料和非晶体材料的一种材料制成的。

7. 按照权利要求 6 所述的设备，其中微型系统平台还包括选自硅、硅石、石英、陶瓷、金属或塑料的一种材料。

8. 按照权利要求 4 所述的设备，其中微型系统平台是具有大约 1 至 25 厘米半径的盘片。

9. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台具有大约 0.1 至 100 毫米的厚度，以及其中第一与第二平坦平面表面之间各微型槽道的横截面尺寸小于 500 微米，并且是平台所述横截面尺寸的百分之 1 到 90。

10. 按照权利要求 9 所述的设备，其中微型系统平台具有大约 0.1 至 100 毫米的厚度，以及其中第一与第二平坦平面表面之间的反应室和试剂储囊的横截面尺寸是平台所述厚度的百分之 1 到 75。

11. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台以大约 1 到大约 30000 转/分的转速转动。

12. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台包括与之连接并埋置于其中的许多样品输入装置、试剂储囊、反应室和微型槽道，其中，借助

产生于微型系统平台转动的向心力，包含样品的一定容积的液体在盘片上从样品输入装置移动进入各反应室并从中移出来，而一定容积的试剂从各试剂储囊移动进入各反应室并从中移出来。

5 13. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台包括检测室，其埋置在平台第一平面表面之内并连接于微型槽道，以及其中微型操作装置包括检测器，从而该检测室由检测器予以测定以生成一种测定输出。

14. 按照权利要求 13 所述的设备，其中装置上的检测器由微型系统平台的旋转运动使之对中检测室。

15. 按照权利要求 13 所述的设备，其中检测器包括光源和光检测器。

10 16. 按照权利要求 15 所述的设备，其中光源照射检测室，其中光线在其中沿横向被反射而通过检测室并由光检测器予以检测。

17. 按照权利要求 16 所述的设备，其中微型平台上的检测室是光学透明的。

15 18. 按照权利要求 14 所述的设备，其中检测器是静止不动的并以相对于平台转动频率或其几倍的频率抽查检测室。

19. 按照权利要求 18 所述的设备，其中检测器包括频闪光源。

20. 按照权利要求 19 所述的设备，其中检测器是单色光源。

21. 按照权利要求 13 所述的设备，其中检测器检测吸收率、荧光性、化学发光、光散射和放射性。

20 22. 按照权利要求 1 所述的设备，还包括热力接触于微型平台的温度控制器件。

23. 按照权利要求 1 所述的设备，还包括热力接触于微型平台的热力检测组件。

25 24. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台包括联接于微型槽道的过滤器。

25. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台包括连接于反应储囊或微型槽道的混合器件。

26. 按照权利要求 25 所述的设备，其中微型系统平台包括静态混合器，它包括反应储囊或微型槽道的网纹表面。

30 27. 按照权利要求 3 所述的设备，其中微型系统平台包括许多微型阀门，其操作上联接于微型槽道、反应室、试剂储囊、样品输入装置和样品流

出口，其中微型系统平台上的液流通过开启和关闭微型阀门予以控制。

28. 按照权利要求 27 所述的设备，其中微型系统平台包括毛细微型阀门，其连接于反应室或微型槽道。

29. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台包括许多空气槽道、废气口和空气置换槽道。

30. 按照权利要求 1 所述的设备，其中该装置的转动装置是电气马达。

31. 按照权利要求 1 所述的设备，其中该装置包括旋转运动控制装置，用于控制微型系统平台的转动加速度和速度。

32. 按照权利要求 1 所述的设备，其中该装置包括用户界面，它包括监视器和字母数字健板。

33. 按照权利要求 1 所述的装置，其中该装置包括交流或直流电源。

34. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台包括电气连接器，接触于连接于微型操作系统的电气连接器。

35. 按照权利要求 1 所述的设备，其中该装置包括微处理器和与之连接的存储器。

36. 按照权利要求 1 所述的设备，其中该装置包括读出或写入装置。

37. 按照权利要求 36 所述的设备，其中读出装置是 CD 激光读出装置。

38. 按照权利要求 36 所述的设备，其中写入装置是 CD 写入装置。

39. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台第二平坦平面表面用各机器语言指令予以编码。

40. 按照权利要求 39 所述的设备，其中各机器语言指令控制平台的运作、从平台作数据获取或分析、数据储存和检索、对其他各装置的联系，或直接的设备性能诊断。

41. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型操作装置包括只读存储或永久储存存储器，其用各机器语言指令予以编码。

42. 按照权利要求 41 所述的设备，其中各机器语言指令控制平台的运作、从平台作数据获取或分析、数据储存和检索、对其各装置的联系，或者直接的设备性能诊断。

43. 按照权利要求 1 所述的设备，还包括第一和第二微型系统平台，遍及每一微型系统平台的平面表面彼此接触。

44. 按照权利要求 1 所述的设备，其中微型系统平台以从大约 1 至大约

30000 转/分的速度旋转。

45. 按照权利要求 1 所述的设备, 其中微型系统平台上的液体以从大约 0.1 厘米/秒到大约 1000 厘米/秒的液体速度移动在平台的各微型槽道之内。

46. 按照权利要求 1 所述的设备, 用于测量生物样本之中一种被分析物的数量, 其微型系统平台包括:

许多样品入口, 围绕平台中心同心的地配置, 其中每一样品入口在操作上联接于

许多微型槽道, 离开平台中心沿径向排列, 所述各微型槽道在操作上联接于

许多试剂储囊, 其包含一种为待测量的被分析物所特定的试剂, 其中从每一储囊释放试剂由微型阀门控制, 而且其中此许多微型槽道在操作上联接于

许多被分析物检测室, 其围绕微型平台的外部边沿沿周向配置,

其中来自样品入口和通过微型槽道的生物样品的运动, 以及来自试剂储囊和通过微型槽道的运动, 由因微型系统平台的旋转而生成的向心力予以驱动。

47. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中生物样品是血液、尿液、脑脊髓液、血浆、唾液、精液或胎盘液。

48. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中被分析物检测室是光学透明的。

49. 按照权利要求 46 所述的设备, 还包括在每一微型阀门之间和在电气控制装置之中的电气布线, 其中阀门开启和关闭由来自控制装置的电气信号予以控制。

50. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中各微型槽道从平台中心向周边沿直线排列。

51. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中各微型槽道从平台中心向周边同心地排列。

52. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中微型操作装置包括检测器。

53. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中检测器是静止不动的, 并且以等于平台转动频率或其几倍的频率抽查被分析物检测室的输出。

54. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中检测器包括频闪光源。

55. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中检测器是单色光源。

56. 按照权利要求 46 所述的设备, 其中检测器可检测荧光、化学发光、光散射或放射性。

57. 一种用于测量生物样品中被分析物的数量的方法, 包括以下步骤:

5 施加生物样品于权利要求 46 微型系统平台的样品入口;

置放微型系统平台在微型操作装置之中,

让微型系统平台旋转运动, 持续一段时间并具有足以驱动包括被分析物的生物样品从样品入口通过微型槽道的速度,

10 在某一时刻并持续一段时间通过从控制装置生成的信号而打开每一控制试剂从试剂储囊释放的微型阀门, 从而试剂移动进入微型槽并混合于生物样品,

观测被分析物检测器之中生物样品与试剂的混合物, 从而构成操作装置的检测器检测正比于出现在生物样品之中的被分析物数量的一个信号, 以及记录生物样品之中被分析物数量的测量结果。

15 58. 按照权利要求 57 所述的方法, 其中生物样品是血液、尿液、脑脊髓液、血浆、唾液、精液或胎盘液。

59. 按照权利要求 57 所述的方法, 其中样品之中的被分析物数量记录在装置之中, 在微型平台上, 或者两者上。

20 60. 按照权利要求 57 所述的方法, 其中在微型系统平台上的被分析物检测室是光学透明的。

61. 按照权利要求 57 所述的方法, 其中检测出来的信号是被分析物检测室以等于平台转动频率或其几倍的频率予以检测得到的。

62. 按照权利要求 57 所述的方法, 其中检测出来的信号是单色光信号。

25 63. 按照权利要求 62 所述的方法, 其中检测出来的信号是荧光信号、化学发光信号或比色信号。

64. 一种按照权利要求 1 所述的设备, 用于检测包括环境样品的气体和颗粒, 其中微型系统平台包括

许多样品入口, 围绕平台中心同心地配置, 其中各样品入口包括空气吸入口和连接漏斗槽道, 其中第一样品入口在操作上联接于

30 许多微型槽道, 离开平台中心沿径向排列, 所述各微型槽道在操作上联接于

许多试剂储囊，包含一种为待检测的气体或颗粒所特定的试剂，其中从每一储囊释放试剂由微型阀门控制，其中各微型阀门电气接触于控制装置，以及其中此许多微型槽道也在操作上联接于

许多气体或颗粒检测器，围绕微型平面的外部边沿沿周向配置，

5 其中来自样品入口和通过微型槽道的环境样品的运动，以及来自试剂储囊和通过微型槽道的试剂的运动，由因微型系统平台的旋转而生成的向心力予以驱动。

65. 按照权利要求 64 所述的设备，其中环境样品包括空气、水、土壤或毁损的生物物质。

10 66. 按照权利要求 64 所述的设备，其中检测器包括气体传感芯片。

67. 按照权利要求 64 所述的设备，其中检测器包括光学透明的颗粒收集室。

68. 按照权利要求 67 所述的设备，其中检测器还包括相干光源。

69. 按照权利要求 68 所述的设备，其中颗粒通过光散射予以检测。

15 70. 按照权利要求 64 所述的设备，其中检测器包括颗粒收集室，其操作上由微型槽道连接于试剂储囊，此储囊包括一种用于以化学方式测试颗粒的试剂。

71. 一种用于检测包括环境样品的气体或颗粒的方法，其中此方法包括以下各步骤：

20 使环境样品接触于权利要求 64 的微型系统平台的样品入口，

置放微型系统平台在一微型操作装置之中，

让微型系统平台旋转运动，持续一段时间并具有足以驱动气态的或颗粒状的环境样品从样品入口通过微型槽道的速度，

25 在某一时刻并持续一段时间通过从控制装置生成一信号而打开每一控制试剂从各试剂储囊释放的微型阀门，从而试剂移动进入微型槽道并混合于环境样品，

直接在气体或颗粒检测室中检测环境样品与试剂或环境样品的气态或颗粒状组分的混合物，从而检测器可检测正比于出现在环境样品之中的气体或颗粒数量的一种信号，以及

30 记录环境样品中气体或颗粒数量的测量结果。

72. 按照权利要求 71 所述的方法，其中环境样品包括空气、水、泥土或

毁损的生物物质。

73. 按照权利要求 71 所述的方法, 其中气体通过气体传感芯片予以检测。

5 74. 按照权利要求 71 所述的方法, 其中颗粒在光学透明的颗粒收集室中予以检测。

75. 按照权利要求 71 所述的方法, 其中颗粒通过相干光散射予以检测。

76. 按照权利要求 71 所述的方法, 其中颗粒在颗粒收集室中予以检测, 此室由微型槽道连接于包括一种用于以化学方式测试颗粒的试剂的试剂储囊, 其中, 在通过启动微型阀门和转动平台而释放试剂之后, 该颗粒与微型  
10 槽道中的试剂混合并发生反应。

77. 按照权利要求 1 所述的一种设备, 其中微型系统平台由码垛起来的一层多个薄膜盘片组成, 该盘片包括微型槽道、样品入口、试剂储囊、反应室和样品出口, 其中每一码垛起来的薄膜盘片是自我配套的并构成本发明的一个平台。

15 78. 按照权利要求 1 所述的一种设备, 用于从血样中确定血球比容值, 其中微型系统平台由具有大约 100 微米直径的径向排列的微型槽道构成, 其中这些微型槽道用肝素予以处理以防止凝结, 而且其中这些微型槽道在接近盘片中心一端处是敞开的, 此设备还包括相干光源和在操作上与之连接的记录装置以构成微型操作装置, 以及其中血样通过微型槽道的运动由因微型系  
20 统平台的旋转运动而生成的向心力予以驱动。

79. 按照权利要求 78 所述的一种设备, 其中相干光源装在从平台转动中心沿径向排列的活动轨道上。

80. 按照权利要求 78 所述的一种设备, 还包括一种在操作上连接于微型系统平台每一微型槽道的 Clarke 电极, 其中此电极接触于微型槽道里面的血  
25 样。

81. 按照权利要求 78 所述的一种设备, 还包括一种在操作上连接于微型系统平台每一微型槽道的 Severing 电极, 其中此电极接触于微型槽道里面的血样。

82. 一种用于从血样中确定血球比容值的方法, 包括以下步骤:  
30 施加血样于权利要求 78 微型系统平台的微型槽道的近端,  
置放微型系统平台在一微型操作装置之中,

让微型系统平台旋转运动，持续一段时间并具有一种速度，足以驱动构成血样的红血胞沿着微型槽道的长度移动，

用相干光源沿着微型槽道长度扫描微型槽道，

5 在沿着微型槽道的形成了红血细胞与血浆之间边界的位置处检测光散射方面的变化。

记录每一微型槽道边界的位置，以及

使每一微型槽道中边界的位置对比于一条血球比容值与边界相关的标准曲线，并记录由此确定出的血球比容。

83. 一种用于从血样中确定血液氧化值的方法，包括以下各步骤：

10 施加血样于权利要求 80 微型系统平台的微型槽道的近端，

置放微型系统平台在一微型操作装置之中，

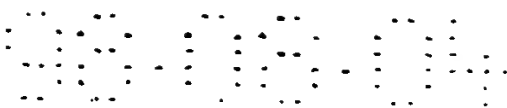
让微型系统平台旋转运动，持续一段时间并具有一种速度，足以驱动血样接触于连接于微型槽道的 Clarke 电极，

检测血样的血液氧化值，以及

15 记录由此确定出的血液氧化值。

84. 按照权利要求 1 所述的一种设备，其中微型系统平台包括许多样品入口、反应剂储囊、反应室、微型阀门和在操作上与之连接埋置在其中的微型槽道，其中微型系统平台由一系列码垛起来的各层组成，各层之中，第一层包括样品输入装置，反应剂储囊、反应室和微型槽道，第二层包括微型阀门，第三层包括从微型阀门到电气控制装置的电气连接装置，以及第四层包括密封层，其中各层码放在微型系统平台固体基底的顶部并结合在上。

20



## 说明书

5

利用向心加速度以激发具有  
自有资讯微型流态系统之中  
的液体运动的装置和方法

10

本发明涉及用于从事微量分析和微量合成的各种研究和作业的方法和  
设备。特别是，本发明涉及关于分析、合成和纯化的各种遗传、生物化学和  
化学过程的微型化。具体地说，本发明提供一种微型系统平台，以及一种微  
型操作装置以通过转动操作此平台，从而利用由平台转动造成的向心力来促  
进液体通过埋置在微型平台之中的各微型槽道。本发明的微型系统平台还配  
置具有在盘片的与包含各流态部件的表面相反的表面予以编码的系统资  
讯的数据采集、分析和储存以及检索资讯。利用本发明的微型系统设备从事  
任何一种广为多样的微型分析和微型合成过程的各种方法也予以提供。

15

在医疗、生物和化学化验的领域中，一种制作得在一种宏观(亦即几毫升  
和几毫克)规模上工作的、机械和自动的液体处理系统和仪器在先前技术中是  
为人所知的。

美国专利 4279862，1981 年 7 月 21 日颁发给 Bertaudiere 等人，披露  
了一种离心光测分析器；

20

美国专利 4381291，1983 年 4 月 26 日颁发给 Ekins，展示了各种游离  
配剂的分析测定；

美国专利 4515889，1985 年 5 月 7 日颁发给 Klose 等人，展示了各种  
自动混合和培育试剂以实现分析测定；

25

美国专利 4676952，1987 年 6 月 30 日颁发给 Edelman 等人，展示了一  
种光测分析设备；

美国专利 4745072，1988 年 5 月 17 日颁发给 Ekins，披露了生物液体  
中的免疫测定法；

美国专利 5160702，1992 年 11 月 3 日颁发给 Kopf Sill 等人，披露了  
一种用于分析某一液体中的各种固体的离心转子；

30

美国专利 5171695，1992 年 12 月 15 日颁发给 Ekins，披露了使用两  
个标记显示器的被分析物浓度测定；

美国专利 5173262, 1996 年 12 月 22 日颁发给 Burtis 等人, 披露了一种处理液体的离子转子;

美国专利 5242803, 1993 年 9 月 7 日颁发给 Burtis 等人, 披露了一种用于进行某一化验的转子组件;

5 美国专利 5409665, 1995 年 4 月 25 日颁发给 Burd, 披露了插进一离心转子之中的比色杯;

美国专利 5413732, 1998 年 5 月 9 日颁发给 Bubl 等人, 展示了用于自动离心血液分析器之中的经过冻干的试剂小球的制备;

10 美国专利 5432009, 1995 年 7 月 11 日颁发给 Ekins, 披露了一种用于分析某一液体中被分析物的方法;

美国专利 5472603, 1995 年 12 月 5 日颁发给 Shembri, 披露了一种用于实施液体分离的分析转子;

Anderson, 1968, Anal.Biochem.28 545 - 562, 展示一种用于细胞分级的多比色杯转子;

15 Renoe 等人, Clin. Chem.20 955 - 960, 展示一种用于离心分析器的“微型盘片”模块;

Burtis 等人, Clin. Chem.20 932 - 941, 展示了一种液体动态引入一种离心分析器的方法;

20 Frifsche 等人, 1975, Clin. Biochem. 8:240 - 246, 展示了采用一种离心分析器的血糖水平的酶分析;

Burtis 等人, Clin.Chem. 21 1235 - 1233, 披露了一种与一种离心分析器一起作用的多用途光学系统;

Hadjiioannou 等人, 1976, Clin. Chem.22 802 - 805, 展示了利用一种小型离心分析器在生物液体中的自动酶乙醇测定;

25 Lee 等人, 1978, Clin.Chem. 24 1361 - 1365, 展示了一种自动血液分级系统;

Cho 等人, 1982, Clin.Chem. 28 1965 - 1961 展示了一种多槽道电化学离心分析器;

30 Berfrand 等人, 1982, Clinica Chimica Acta, 119 275 - 284, 展示了利用一种离心分析器的血浆 5'-核甙酸酶的自动测定;

Schembri 等人, 1992, Clin.Chem. 38 1665 - 1670, 展示了一种便携

式全血分析器;

Walters 等人, 1995, Basic Medical Laboratory Technoloics, 3<sup>rd</sup> ed, Delmar Publishers, Boston, 展示了各种各样的自动医疗化验分析方法;

近来, 已经研制了一些用于实现选定反应路径的微型分析装置,

5 美国专利 5006 749, 1991 年 4 月 9 日颁发给 White, 披露了用于利用超声能驱动超小型元件的方法和设备;

美国专利 5252294, 1993 年 10 月 12 日颁发给 Kroy 等人, 展示了一种用于实现某些化学微量分析的微型机械结构;

10 美国专利 5304487, 1994 年 4 月 19 日颁发给 Wilding 等人, 展示了在微型规模分析装置上的液体处理;

美国专利 5368704, 1994 年 11 月 29 日颁发给 Madou 等人, 展示了微型电化学阀门;

国际申请, 公开号 WO 93/22053, 1993 年 11 月 11 日出版, 属宾夕法尼亚大学, 披露了微型加工制作的检测结构;

15 国际申请, 公开号 WO 93/22058, 1993 年 11 月 11 日出版, 属宾夕法尼亚大学, 披露了用于实现聚核武酸扩增的微型加工制作的结构;

Columbus 等人, 1987, Clin.Chem.33 1531 - 1537, 展示了生物液体的液体处理;

20 Ekins 等人, 1992, Ann.Biol.Clin.50 337 - 353, 展示了一种多重分析微点免疫测定法;

Wildvng 等人, 1994, Clin.Chem. 40 43 - 47, 披露了在经过微型加工制成于硅之内的各直线槽道上的液体操作。

25 先前技术披露了用实施微量分析和微量合成方法的合成微型芯片。在先前技术的微型分析方法和设备中的一项缺点一直是, 难于设计一些系统, 用于通过具有直径在 10 - 100 微米范围之内的各槽道和各储囊来推移微型芯片上的液体。还有, 披露在先前技术中的各种装置始终要求集成于一种用于从事微量分析的仪器之中的分别的数据分析和储囊媒体, 从而不必要地加大了所设计的、使用微型芯片的仪器复杂性; 而没有在这种器械的灵活性和有用性方面的某种相伴的加强。

30 依然需求一种简单、灵活、可靠、快速和经济的微量分析和微量合成反应平台, 用于各种生物、生物化学和化学分析和合成, 这种平台可以驱动微

型系统平台的各结构部件之内的各样液体。这样一个平台应当能够驱动纳升到微升数量的液体，包括多种试剂和反应剂在内，以快速实现各反应组分的适当混合、各反应副产物的除去和所需的各反应产物和中间产物的分离。同样需求一种仪器，用于操作此平台以实现液体运动、热力控制、试剂混合、  
5 反应物检测、数据采集、数据分析和与用户的数据及系统交互作用。在另外一些实施方案中，这种装置是必需的，它可精密(专业用，比如医院用)、易于使用(消费者用，比如家庭监测用)而又是便携式的(现场用，比如环境测试用)。有利的是，这种装置还可以把各种“湿式”化学功能与信息处理、储存和管理能力结合起来。

10 本发明提供一种集成的、微量分析/微量合成系统，以在超小型规模上从事广为多样的生物、生物化学和化学分析。本发明提供设备和各种方法，用于在一微型平台上从事这些微型规模过程，借此，液体由平台转动所生成的向心力驱动而在平台上移动于所限定的各槽道之中。

在本发明的一个方面中，提供一种包括两部器件的一项组合的微量分析  
15 /微量合成系统。第一器件是一微型平台，是一可转动的构件，最为可取的是一盘片，此盘片包括各样品入口、各液体微型槽道、各试剂储囊、各反应室、各检测室和各样品出口。此盘片以从大约1至30000转/分的速度转动，用于生成可使液体运动的向心加速度。本发明的盘片还可取地包括各液体入口、各空气出口和各空气移动槽道。各液体入口允许样品进入盘片以接受处理和  
20 /或分析。各空气出口和特别是各空气移动槽道提供了一种液体推移空气的手段，从而确保液体在盘片上的无阻运动。盘片上的各特定地点还可取地包括各个允许液体受到分析的元件，包括各热源；各光源，特别是平色光源；和各声源；以及用于每一这些试验器的各检测器。另外，这些元件的一些或全部可以装在第二盘片上，此盘片安放得与第一盘片形成光学或直接的物理接  
25 触。

本发明的第二器件是一微型操作装置，这是一种可控制该盘片功能的盘片放送/阅读装置。这一装置包括各机构和各马达，它们可使盘片被装入和被旋转。此外，此装置为用户提供最好是使用一键板和计算器显示器来操作盘片中的微型系统并存取和分析数据。

30 本发明提供了方法和设备，用于处理由包含或包括被分析物的各种液体、各种细胞和/或各种颗粒组成的各种样品。本发明的微型平台盘片是包括

但不限于各样品入口、各微型槽道、各腔室、各阀门、各加热器、各冷却器、盘片上的各电泳和检测装置的微型系统。样品的运动因适当地装有各气孔和各空气移动槽道而容易一些，因为它们允许空气排除，但却防止当加速时液体和/或颗粒损失。

5 本发明盘片的一项优选实施方案装有经过微型机加工制成的在一基底上的各机械、光学和流态控制结构(或“系统”)，而基底优选地由塑料、硅、石英、金属或陶瓷制成。这些结构是在次毫米规模上用光刻、蚀刻、冲压和其他适当的手段制作而成的。

10 样品运动由向心或线性加速度以及有选择地启动盘片上的各阀门而予以控制。

在本发明的一些优选实施方案中，盘片的一部分专用于借助标准的读出/写入数字技术作信息处理。从处理和分析中得出的数据采用数字记录手段记录在盘片表面上。在另外的一些优选实施方案中，盘片上的只读存储器(ROM)包括盘片信息、各项指令、各种实验约定、数据分析和统计方法，这些都可  
15 由操作盘片的用户予以存取。

借助向心加速度的液体传输方法和使得这种处理成为可能的微型操作装置，在液体的合成和分析以及包括一种液体特别是一种生物液体的被分析物的检测方面，具有范围广泛的应用。各种化学和生物化学反应可以通过借助于各毛细、机械或热力阀门装置有选择地开启邻近的各试剂腔室而在盘片  
20 上的反应室中予以进行。这些腔室之中的的各内含物利用向心加速度被输送给此反应室。反应的产物然后可以作为后续各种反应的试剂，由检测系统予以探测或者予以回收。

本发明设备的某些优选实施方案将在此申请的以下各段中和附图中较为详细地予以说明。

25 图(A(顶视图)和 1B(侧视图)表明贮囊(12、14、18、20)、阀门(13、15、17、19、21、23、25)、反应室(16、22、24)、孔口(11、32)和气孔(29、33、34、35)在作为本发明各微型平台的各盘片上的配置。图 1C 表明一盘片上许多微型系统的配置。

图 2A 是一图线，而图 2B 是本发明一盘片上一槽道配置的示意简图，  
30 均为关于方程 5 所述。

图 3A 是一图线，而图 3B 是本发明一盘片上一槽道配置的示意简图，

均为关于方程 12 和 13 所述。

图 4A 是一图线，而图 4B 是本发明一盘片上一槽道配置的示意简图，  
均为关于方程 14 所述。

图 5A、5B 和 5C 是图线，而图 5D 是本发明一盘片一槽道配置的示意  
5 简图，均为关于方程 15 所述。

图 6 是一压电叠式微型阀门的示意简图。

图 7 是一气动微型阀门的示意简图。

图 8 是向一旋转盘片输送气动压力的装置的示意简图。

图 9 是双金属式微型阀门的示意简图。

10 图 10 是一压力平衡式微型阀门的示意简图。

图 11 是一聚合物松弛式微型阀门的示意简图。

图 12A 和 12B 表明本发明的荧光检测器的两个不同的实施方案。

图 13A、13B 和 13C 是一种用于盘片的多重加载装置的示意简图。

图 14A 至 14F 表明本发明盘片的激光光驱 CD - ROM 功能。

15 图 15 是本发明一种放送器/阅读器的处理器控制结构的流程图。

图 16 是一横向光谱检测室的示意简图。

图 17A 至 17F 是为 DNA 测序所设计的本发明一种盘片的不同结构和功  
能层的示意简图。

图 17F 是分析用盘片的各基底区域和各设计格式的示意简图。

20 图 17G 是一设计成为局部测试诊断用盘片的示意图简图。

图 17H 是一设计成为简化的免疫电容测定试样的示意简图。

图 17I 是一设计成为气体和颗粒盘片的示意简图。

图 17J 是一包括分别组装的各芯片的混合盘片的示意简图。

图 17K 是一样品认可盘片。

25 图 17L 是一为治疗用途所设计的盘片的示意简图。

图 17M 是一带有可去除的各测定层的盘片的示意简图。

图 17N 是一用于测定各种气溶胶的盘片的示意简图。

图 17O 是一用于流动血细胞计数的盘片的示意简图。

图 17P 是一用于显微用途的盘片的示意简图。

30 图 17Q 是一用于免疫测定用途的盘片的示意简图。

图 17R 是一薄层色谱盘片的示意简图。

- 图 18 是一为血球比容测定所设计的盘片的示意简图。
- 图 19 是一为 SPLITT 血液成分分级而设计的盘片的示意简图。
- 图 20 是一设计成为 DNA 溶解计的盘片的示意简图。
- 图 21 是一为 DNA 扩增而设计的盘片的示意简图。
- 5 图 22 是一为 DNA 的自动限制酶消化所设计的盘片的示意简图。
- 图 23A 是一为 DNA 合成所设计的盘片微型系统的一部分的示意简图。
- 图 23B 是一为许多 DNA 低核武酸合成所设计的盘片的示意简图。
- 图 24 是一为 DNA 排序所设计的盘片的示意简图。
- 图 25 是一为铁测定所设计的盘片的示意简图。
- 10 图 26 是一为固相反应所设计的盘片的示意简图。
- 图 27 是一为样品萃取所设计的盘片的示意简图。
- 图 28 是一为毛细电泳所设计的盘片的示意简图。
- 图 28 是一为凝胶电泳所设计的盘片的示意简图。
- 图 29 是一在微型平台中横向光经的示意简图。
- 15 图 30 是本发明在控制信息方面的工艺流程的方框图。
- 图 31 是一较为详细的本发明在控制信息方面的示意简图。
- 图 32 是一较为详细的本发明在控制信息方面的示意简图。

本发明提供一种微型平台和一种微型操作装置，用于实现生物、化学、环境和工业样品的微型分析和微型合成测定。为了本发明的各项目的，“样品”一词将理解为包括感兴趣的任何化学的或微粒状的各种物质，或是作为一种比较复杂的混合物的某一组分而分离出来或检测出来的，或是从各种前体物质所合成出来的。本发明提供一种微型平台和微型操作装置的组合，前者是一可转动的、分析/合成微量容积测定平台(在此总的称作“盘片”)，而后者用于操作此平台以实现由于转动而由作用在平台上的向心力引起的在平台上的流体运动。本发明的平台最好是和最有利的地是一种圆形盘片；不过，任何能够转动以赋予平台上的液体具有向心力的平台均落入本发明的范围之内。

20

25

本发明的各种微型平台(最好是在此后总的称作“各种盘片”；为了本发明的各项目的，“微型平台”、“微型系统平台”和“盘片”认为是可以互换的)配置成包括一个或多个微量合成或微量分析系统。这些微量合成或微量分析系统本身又包括在此更为详细地予以说明的各相关部件的各种组合，这些

30

部件在操作上相互连系以便在当盘片转动就使液体流动在各部件之间。这些部件可以下述方式予以制作，即或是与盘片形成一体，或是作为各模块装接于盘片、安放在盘片上、接触于盘片或埋置在盘片之中。本发明还包括一种微型操作装置，用于操纵本发明的各盘片，其中在装置之内转动盘片以形成向心力而实现在盘片上的液体流动。因此，此装置提供了手段，用以以一受控的转动速度来转动盘片、用以终止和开始盘片转动，以及有利地用以改变盘片的转动方向。机电装置和控制装置二者，在此还要说明，均予以设置作为本发明的装置的各部件。用户界面装置(诸如键盘和显示器)也予以设置。

本发明提供了一些方法和设备，用于操作各种由包含感兴趣的被分析物的各种液体、细胞和/或颗粒(在此一般地称作“样品”)所构成的样品。本发明的各种平台由以下各种系统构成，它们包括各样品输入孔口、液流的各微型槽道、各试剂储囊、各混合室、各反应室、光学读出室、用于控制各部件之间液流的各阀门、各温度控制元件、各分隔槽道、各电泳槽道和各电极、各空气出口、各样品出口、各产物出口、包括磁性、声学 and 机械混合器的各混合装置、诸如电池或电磁发电机的自载电源、各液态和干燥试剂，以及在此所述的或熟练技术人员所知的其他一些部件。样品的运动由于各气孔或各空气推移槽道的适当结合而得以促进，这些槽道可使空气被推移，但防止在加速时液体和/或颗粒的损失。最好是盘片装有显微加工而成的、在由如塑料、硅、石英、金属或陶瓷所制成的各平台上的各种机械、光学或流态的控制部件。为了本发明和各项目的，“显微加工而成的”一词指的是使得这些构件在亚毫米规模生产的各种加工过程。这些加工过程包括但并不限于光刻、蚀刻、冲压和其他一些为本技术领域熟练技术人员所熟悉的手段。

液体(包括各试剂、各样品和其他各液态组分)运动由平台转动所造成的向心加速度予以控制，并由选择性启动控制平台各微型系统各部件之间相连的各阀门来予以控制。液体以某一速度并在某一适合于特定微型系统的压力之下流动而需要的向心加速度大小，由以下各因素确定，即包括但并不限于平台的有效半径、平台上各构件相对于转动方向的位置角度和平台的转动速度。

各种化学和生物化学反应，通过选择性开启控制相邻各试剂储囊的通路各微型阀门，而在反应室内进行。各微型阀门，以下将更为详细地说明，包括机械、电气和热力阀门装置，以及各种毛细微型阀门，其中液流是由作

用在液体上的毛细力与向心力之间的关系来控制的。各试剂储囊的内含物，通过由这些微型阀门予以控制的各微型槽道连接于反应室中，由于微型平台的转动与适当各微型阀门的开启相一致而被分送到此反应室。分送到反应室的试剂数量由转动速度和通向各试剂储囊的阀门开启时间予以控制的。在反  
5 应室中进行的反应的各种产物类似地通过有控制地开启反应室中的各微型阀门而从反应室排除到分析系统、第二反应室或产物出口。

构成本发明的各微型平台各部件的分析系统包括检测系统，用于检测、监控、定量或分析反应进程、各种产物或各种副产物。在制作和使用本发明各微型平台中有用的各检测系统包括但并不限于荧光、化学发光、比色、电  
10 化学和放射性检测装置。可供选择的是，此检测系统可以与平台形成一体，可以是平台操作装置的一个部件，或者二者都是。

因而，本发明所提供的微型平台和微型操作装置可得到待处理的分析或合成数据。数据处理或是由盘片上的处理器和存储模块、由装置微型处理器和存储器，或是由连接于微型操作装置的外装计算机予以实施。用于数据检索和储放的可取下的媒体或是由盘片本身，或是由此装置提供，采用计算机  
15 软盘、磁带或光学媒体。另外并最好是，数据采用 CD 读/写技术和常用的光学数据储放系统书写在微型平台上。在这些实施方案中，数据是在平台底面上书写于微型平台的，对置于装有在此所阐明的各种微型系统部件的“湿式”化学一面。

20 本发明各微型平台的物理参数变化很大。当形成盘片时，盘片半径范围从 1 至 25 厘米，而盘片厚度范围从 0.1 毫米至 10 厘米，较为可取的是 0.1 到 100 毫米。对于制作和使用本发明各盘片最好为有利的各优选实施方案的尺寸处于四种早先存在的规格的一种或几种之内：(1)3 英寸光盘(CD)，具有的半径大约是 3.8 厘米和厚度大约是 1 毫米；(2)5 英寸 CD，具有的半径大  
25 约是 6 厘米和厚度大约是 1 毫米；(3)8 英寸 CDV(市场上名为“激光视”盘)，具有的半径大约是 10 厘米和厚度大约是 2 毫米；以及(4)12 英寸 CDV，具有的半径大约是 15 厘米和厚度大约是 2 毫米。

微型槽道和储囊的尺寸是由各具体用途和本发明各种微量分析和微量合成方法的每一特定实施方案所需的试剂数量和各试剂分送速度予以优化  
30 确定的。对于各微量分析用途，比如，5 英寸 CD(6 厘米 × 1 毫米)的盘片尺寸是优选的，使得各试剂储囊可以包含高至 5 毫升(接近盘片所实际推移的)。

微型槽道尺寸的范围可以从 0.1 毫米到一接近盘片 1 毫米厚度的数值。微型槽道和储囊的形状可以是梯形、圆形或其他所需的各种几何形状。各微型槽道最好是埋置在具有大约 0.1 到 100 毫米厚度的微型系统平台之中，其中横过平台厚度尺寸的各微型槽道的横截面尺寸小于 500 微米并从所述平台横截面尺寸的百分之一至百分之九十。各试剂储囊、各反应室、各检测室和各样品进和出口最好是埋置在具有大约 0.1 到 100 毫米厚度的微型系统平台之中，其中横过平台厚度的各微型槽道的横截面尺寸为所述平台横截面尺寸的百分之一到百分之七十五。

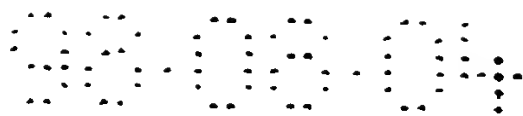
各输入和输出(进和出)孔口是本发明各微型平台的部件，用来引入和取出各种各样的液体组分。各进口设置得可使各样品和各试剂被放置在或喷注到盘片上；这类孔口一般设置得朝向盘片的中心。各出口设置得可使空气逸出，最好是进入盘上“消减”或“阻隔”装置，以使盘片的液体运动不受阻禁。包括在盘片上空气处理装置之中的还有各空气推移槽道，借此，液体的运动通过连接于包含液体的各微型槽道的各槽道逆向于液体的运动方向而推移空气，从而形成正压而进一步促进液体的运动。各出口还设置得可使各种产物从盘片取出。孔口形状和结构按照各具体用途而变化。比如，各样品输入孔口设计得尤其可使毛细作用有效地把样品吸进盘片。此外，各孔口可以设计得使得自动的样品/试剂装放或产物取出成为可能。各进和出口最好是设置成几排，借此，多个样品可以利用一种专门设计的投放工具施加于盘片中。可以设计类似的工具用来实现从微型平台取出产物。各样品孔口，各气孔、各试剂储囊、各反应室和各微型阀门的具有代表性的各种配置示于图 1A 至 1C 之中。

各种盘片部件和元件在操作上最佳的布局取决于有关各向心力的液体运动动力特性。向心力是平台半径、盘片转速和液体密度的函数。某些与本发明平台各微型系统有关的函数参数可通过以下各方程予以理解。这些方程应当代表系统性能的各个极限，因为它们既考虑到完全展开的液流的粘性也考虑到其非粘性(紊流)损失。

用于液体运动和产生液体压力的驱动力是由向心加速度造成的力。装置可以以每秒转数计的角速度  $f$  转动，而角频率

$$\omega = 2 \pi f \quad (1)$$

向心加速度(或在离开匀速转动盘片的中心的径向距离为  $R$  处沿着半径取向



的加速度)是

$$a_c = \omega^2 R \quad (2)$$

在这种均匀圆周运动中的质量  $m$  承受向心力

$$F_c = ma_c = m \omega^2 R \quad (3)$$

- 5 此力沿着半径指向转动中心。如果此质量保持固定在此半径处，造成转动的装置则提供这种力，这就是在下述各液柱中静压力的起源。如果此质量置放在沿径向取向的管子上方的捕集门的顶部，而且此捕集门是打开的，则此质量的惯性将使之沿此管子加速向下，这就是在转动盘片上驱使液体沿径向向外的基本原理。

- 10 转动可在非流动液体中造成静压力。假设液柱以内半径  $R_0$  伸出。此管子可以沿着半径或倾斜于半径某一角度。在位置  $R_0$  处的压力规定为  $P_0$ ，这比如是大气压力。由于液体的转动而在位置  $R$  处 ( $R_0 < R$ ) 造成的超额压力可以通过从位置  $R_0$  到  $R$  对于密度为  $\rho$  的液体积分单位面积的向心力而获得

$$P - P_0 = \int \rho a_c = \rho \omega^2 / 2 \times (R^2 - R_0^2) \quad (4)$$

- 15 如果管子是充满的，从中心伸出，则此压力是

$$P - P_0 = (2.834 \times 10^{-4}) \rho f^2 R^2 \quad (5)$$

以每平方英寸磅(psi)计，其中  $R$  = 以厘米计的径向位置， $\rho$  = 以克质量/厘米<sup>3</sup>计的密度，以  $f$  = 以转数/秒计的频率。因而，压力(或在液体上的向心力大小)直接随液体密度而变化，并随离开转动中心的径向位置的平方以及转动频率的平方而变化。

- 20

为了确定在转动盘片各槽道中液体的运动速度，必须求解液体运动方程。半径为  $a$  和长度为  $dR$  的充满圆形槽道的液体部件具有承受加速度的质量  $dm$ ：

$$dm = \pi \rho a^2 dR \quad (6)$$

- 25 此液体部件的运动方程是力 = (质量) × (加速度)。该力是各向心力、由于液体与蒸气和液体与各固体表面之间各界面能量方面的差别而造成的各毛细力，以及由于液体粘性和流动的非均匀而造成的各弥散力。毛细力是忽略的；可以理解，向心力和/或外压力可能需要施加以迫使液体进入未经弄湿的各槽道。作为这些弥散力的过高估计，既要包括牛顿流体完全展开的层流作用力
- 30 ( $F_L$ )，也要包括由于非均匀流动所造成的力( $F_D$ )；

$$F = ma$$

$$F_C + F_L + F_D = d m a_R \quad (7)$$

$$F_C + F_L + F_D = (\rho \pi a^2 dR) a_R$$

其中  $a_R$  是液体质量部件沿着半径的加速度, 且

$$F_C = (\rho \pi a^2 dR) \omega^2 R$$

$$5 \quad F_L = -(8 \mu \pi a^2 dR) u \quad (8)$$

$$F_D = -(2 \rho \pi a^2 dR) u^2$$

其中  $\mu$  是粘度, 而  $u$  是液体的径向速度. 后两个表达式是完全展开的和完全未展开的层流, 诸如在槽道各入口/各出口或在流动液滴的各端部处的标准力学表达式. 还要指出, 对于相对于半径倾斜一角度  $\theta$  的各管子或各槽道,  $F_C$

10 可用  $(F_C) \times \cos \theta$  代替. 最终的方程成为

$$\begin{aligned} (\rho \pi a^2 dR) \omega^2 R - (8 \mu \pi dR) u - (2 \rho \pi a^2 u^2 dR) \\ = (\rho \pi a^2 dR) (du/dt) \end{aligned} \quad (9)$$

其中液体的径向加速度由  $a_R = (du/dt)$  确定. 这是液流速度的一个微分方程.

此方程针对各具体实例予以求解. 考查一长度为  $L$  的液滴, 在长度大于  
15 液滴的径向槽道中运动.

由于液滴中的液体全都以同样速度运动, 所以  $dR$  可以由  $L$  代替, 而  $R$  由液滴的平均位置  $\langle R \rangle = (R + L/2)$  代替.

除去各公共因子:

$$(\omega^2 (R + L/2)/2) - (8 \mu / \rho a^2) u - 2(u^2/L) = (du/dt) \quad (10)$$

20 此方程必须以数值方法求解. 可以作出一项已经通过与各种数值能相比而得到确认的近似. 此近似在于, 左边的各负值项几乎可完全抵消正值项. 于是右边可设定为 0 并为在位置  $R$  的“终端速度”  $U_0$  的以下最终方程作出解答

$$(\omega^2 (R + L/2)/2) - (8 \mu / \rho a^2) u_0 - 2(U_0^2/L) = 0 \quad (11)$$

这是一个二次方程, 其解是

$$25 \quad u_0 = -(B + \sqrt{B^2 + 4AC})/2A \quad (12)$$

连同

$$A = L/2$$

$$B = 8 \mu / \rho a^2 \quad (13)$$

$$C = (\omega^2 (R + L/2)/2)$$

30 按照常用单位, 这些变为  $A = 2/L$ ,  $B = 320 \mu / \rho D^2$  和  $C = (1974) \rho^2 (2R + L)$ , 连同  $u_0$  = 液体速度, 以厘米/秒计;  $L$  = 液滴长度, 以厘米计;  $\mu$  =

粘度, 以泊计;  $\rho$  = 液体密度; 以克质量/厘米<sup>3</sup>计;  $D = 2a$  = 管子直径, 以厘米计; 以及  $R$  = 液滴半径的位置, 以厘米计。如所述的, 此表达式给出管状槽道中液滴的近似速度, 液滴的容积导致液滴长度小于槽道长度。这一估计值既考虑到粘性, 也考虑到非粘性损失。液滴的速度将随着密度和液滴容积(长度)的增大而增大, 并随着粘度的增大而减小。此速度将随着槽道直径、转动速度和径向位置的增大而增大。

在位置  $R_0$  处连接于饱满腔室并在位置  $R_1$  及处接纳储囊的充满的槽道之中液流速度, 当槽道长度  $L = R_1 - R_0$  时, 通过确定方程(11)和接连各方程中的  $L$  而计算出来。而后, 方程(13)连同随在方程(13)之后的各项定义用来计算作为半径的函数的、充满的腔室之中的流动速度。

液流的流率是速度与槽道面积的乘积

$$Q = u_0 \pi a^2 = u_0 \pi D^2/4 \quad (14)$$

其中  $Q$  = 流量, 以毫升/秒计;  $u_0$  = 速度, 以厘米/秒计(从方程 12 和 13 计算出来); 以及  $D$  = 管子直径, 以厘米计。

通过一长度为  $L$  的管子或槽道从储囊把容积  $V$  传输到容器所需的时间取决于  $V$  是否是这样的, 即管子由容积  $V$  充满(管子中具有容积  $V$  的“液滴”的长度会大于管子本身)或是未充满。在前一情况下, 此时间大致是液体容积  $V$  除以流率  $Q$ , 在后一情况下, 大致是, 这一计算出来的时间乘以管子长度对最终液滴长度的比值

$$D_t = V/Q, \text{ 如果 } L \leq (4V/\pi D^2) \quad (15)$$

$$D_t = (V/Q) \times (4 \pi D^2 L/4V), \text{ 如果 } L > (4V/\pi D^2)$$

其中  $D_t$  是容积(以毫升计)为  $V$  的液体以流率(以毫升/秒计)  $Q$  流动时从一充满的储囊通过一长度为  $L$  和直径为  $D$ (以厘米计)的管子流向容器的同一时间(以秒计)。流率  $Q$  是从方程(14)和借助延伸方程(12)和(13)以及随在方程(13)之后的各参数定义计算出来的。时间  $D_t$  随着所传输容积的增大而增大并随着流率的增大而减小。

液体各特征量, 诸如压力和速度, 相关于盘片的各物理参数, 诸如盘片半径和转动速度, 如上述。这些关系示于图 2 - 5, 是从以上各方程针对在室温下具有  $\rho = 1$  克质量/厘米<sup>3</sup> 和  $\mu = 0.001$  泊的水而导出的。这些图形描绘了转动盘片上液体运动关系最相关的一些参数。

图 2A 表明充满液体的、30 厘米长的管子中的静压力, 作为径向距离( $R$ )



和转动速率( $f$ )的函数, 与后二者之间的关系, 从方程(5)计算而得。管子在转动盘片上的配置示于图 2B。可以看出, 在 0 与 10000 磅/平方英寸之间的压力可在 0 到 10000 转数/分的转速下在管子之中产生。这样大小的压力一般比如用来驱动高压液体色谱分析(HPLC)仪。

5       图 3A 表明各液滴的径向速度, 各液滴具有 1, 10 和 100 微升的容积, 运动在 30 厘米长、直径 1 毫米的一根空白管子之中, 速度是由方程(12)和(13)计算而得的。管子经过调准使之沿着盘片半径从中心伸展, 而盘片以 100, 1000 或 10000 转/分的速度转动。管子在转动盘片上的配置示于 3B。这些速度可以用来计算各液滴的传输时间。比如, 1 微升的液滴, 当处在离开以 1000  
10 转/分转动的盘片的中心 2 厘米的位置上时, 以大致 20 厘米/秒的速度流动。因此, 流经 1 厘米管子的时间可以计算出来是大约 0.05 秒。(对一些不沿径向而与转动方向成  $45^\circ$  角取向的管子, 速度降低因子是 30 % )。

图 4A 表明在具有不同直径的 5 厘米充满液体的管子之中的流率。这些管子各自安放在转动盘片上并连接两个沿径向取向的储囊, 示于图 4B。按  
15 照方程 14, 流率是管子的径向位置(本例中在 2 - 30 厘米之间变化)、管子直径(10 微米、100 微米或 1000 微米)和转动频率(100、1000 或 10000 转/分)的函数。(如上述, 对于具有非径向取向  $45^\circ$  的一些管子, 速度降低因子是 30 % )。示于图 3A 的液滴速度是按照方程 3 计算而得的, 而流率是利用方程 4 确定出来的。

20       在图 5A、5B 和 5C, 表明通过 5 厘米管子分别传输 1、10 和 100 微升液滴所需的时间。此管子连接两个示于图 5D 中的、沿径向取向的储囊。传输时间是管子径向位置(0 - 30 厘米)、管子直径(10 微米、100 微米或 1000 微米)和转动频率(100、1000 或 10000 转/分)函数。示于图 5A、5B 和 5C 的各曲线是利用方程 15 计算而得的。

25       归纳起来, 这些公式和图线说明了在确定盘片上的液体速度和流率方面, 盘片半径和转动速度、槽道长度和直径、以及诸如液体速度和密度这样的液体特性之间的相互关系。这些导出结果背后的一些假定包括忽略由于 Poiseuille(非紊流)流动所造成的粘性损失, 再加上由于液滴非均匀流动所造成的和在管子进和出口处的各种损失。这些公式和图线提供了速度和流率的  
30 低限。液体速度的范围可以从低于 1 厘米/秒到大于 1000 厘米/秒, 而对于转动速率从低于 1 至 30000 转/分的范围, 而流率从小于 1 微升/秒到几十毫升/

秒。通过把槽道直径和在盘片上的位置结合起来，有可能在一个很大范围的时间规模上进行液体传输，对于不同的过程，这一范围是从几毫秒到几小时和几十小时。

### 盘片涂层和构成

- 5 诸如盘片这样的微型平台和包括这种平台的部件最好是备置得具有各种构成和表面涂层，适合于在此所阐明的范围很广泛的用途之中的某一具体用途。盘片构成依赖于结构上的需要、制造工艺方法和反应剂的相容性/化学阻抗特性。具体地说，盘片备置得由无机晶体或非晶体材料，比如硅、石英、硅土和金属制成，或者由诸如塑料这样的有机材料，比如聚(甲基丙烯酸甲酯)(PMMA)、乙腈-丁二烯-苯乙烯三元共聚物(ABS)、聚碳酸酯、聚乙烯聚苯乙烯、聚烯烃类、聚丙烯和茂金属制成。这些都可以与如下所述的未性的和经过改性的表面一起使用。

- 在制作本发明微型系统盘片的一项重要结构上的考虑是在使用期间由于应力作用而造成的机械失效。以高速转动的盘片失效机制包括断裂，可因拉伸载荷而产生，或者由于裂缝和色裂而产生，如 Hertzberg 书中所述(1989，工程材料的变形和断裂力学，第三版，Wiley & Sons，纽约)。这种失效发生在由于盘片转动所造成的应力(定义为单位面积的载荷)超过用于制作盘片的材料的临界特征值的时候。在盘片上任一点处的“载荷”是由于转动所造成的张力；亦即，在盘片上一给定半径处，整个载荷是为保持在各较大半径处的材料作圆周运动所必需的向心力；载荷/面积或应力则是此力除以盘片的整个面积( $2 \pi r \times$  盘片厚度)。材料将会失效的应力临界值称作屈服应力，它取决于材料接合在一起的结合能和材料中各种缺陷(诸如在硅或塑料基底材料之中的晶体缺陷)的存在。无缺陷材料是可以撕扯分开的，而一些微小的缺陷将通过裂缝或“龟裂”(亦即，一种原先玻璃态塑料的塑性变形和失效)扩展开来。比如，市售硅的屈服强度允许 30 厘米盘片以 10000 转/分的速度疾转而在内部各槽道和各腔室的直径小于整个盘厚度的大致 80 % 时，没有机械失效。在由塑料制成的盘片中，盘片上的应力一般由于塑料密度较低(可减小载荷/单位面积)而被减小。不过，屈服强度也比硅低大约两个数量级(下文中有较为详细的叙述：Luis & Yannis，1992，聚合物的计算模型，(Bureitz 主编)，Marcel Dekke：纽约)。所提出的这一问题的解决办法是，或是在较低速度(诸如 1000 转/分)下旋转塑料制 30 厘米盘片，或是增大盘片半径的大小

(诸如对于要求 10000 转/分转速的应用场合使用 4 厘米塑料盘片)。因而, 针对某一特定的应用场合作出具体的材料选择可足以适应对于盘片各功能特性和特征所作的与盘片构成有关的各种约束条件。

5 接触液体的盘片材料也必须对于加热和冷却时处在应力作用之下和相应于高强度紫外或可见光线(尤其发生在使用某种如下所述检测装置时)照射时耐各试剂溶液的降解。此外, 显露于各试剂和各反应混合物的一些表面(诸如各微型槽道, 各储囊和各反应室)必须具有适合于每一应用场合的良好表面特性。硅、硅土和石英, 作为基底用于微型平台制作, 是特别耐用的材料。硅及其氧化物(基本上是硅土)只是受到某些过氧化物(诸如过氧化氢加硫酸的  
10 混合物)、氢氧化物(诸如 KOH)、氢氟酸(HF), 或是单独一种或是与碱基硝酸盐相结合, 以及各种全氟化溶剂(如 SF<sub>6</sub>)的化学侵蚀, 见下文: Iler, 1979, 硅土化学, Wiley & Sons 纽约; 硅的特性, 第十版, (INSPEC, 伦敦, 1988)。硅基基底对于脂肪和芳香烃类(诸如四氢呋喃、甲苯等)具有化学惰性, 并基本上在暴露于水和各种中性水溶液时是化学惰性的。

15 广为多样的聚合物基(塑料)基底适于制作本发明的微型系统平台。最耐化学性的聚合物, 聚(四氟乙烯; PTFE)不是可以熔融处理的, 但容易作机加工。PTFE 实际上是具有化学惰性的并可以用于大多数利用强酸、碱、强碱、卤代溶剂, 或者其他强化学试剂中。其他一些氟聚合物(诸如 FEP、PFA)要比 PTFE 容易加工并保有 PTFE 的大部分耐化学性。更容易加工的材料可以  
20 针对选定的耐力而加以选择。比如, 虽然聚酰亚胺非常耐酒精、强碱、脂肪烃类和碱(比如 NaOH), 但它所对于部分卤化的溶剂(比如二氯苯)的耐力很差。聚(氯乙烯)对氧化性酸类和脂肪烃类具有很强的耐力, 而其对于芳香烃类的抗力很差。此外, 许多对于化学品的浓缩应用场合不具有很高的耐力的材料对稀释的溶液可以提供足够的抗力或可以提供足够的抗力而用于单一用途  
25 的各种装置(比如聚酰胺和聚酰亚胺可以与某些诸如乙酸和盐酸这样的酸类稀释溶液一起使用)。大多数聚合物材料是耐水的。

具体的一些化学的/聚合物组合包括: 甲酰胺、二甲基吡啶和乙腈连同非芳香非极性聚合物(聚丙烯、聚乙烯); 二氯甲烷连同聚碳酸酯和芳香聚合物(聚苯乙烯); 乙醇胺和二甲基亚砷连同脂肪族和非芳香族聚合物(聚(甲基丙烯酸  
30 甲酯)、聚酰亚胺、聚酰胺)。氟聚合物耐所有上述化学剂。其他感兴趣的溶剂和试剂, 包括吡啶、四唑、三氯乙酸、碘、乙酸酐、N - 甲基吡咯烷、

N,N - 二乙基丙乙胺和哌啶, 适于与氟聚合物和某些耐溶剂聚合物, 诸如PVC一起作用(聚合物科技百科全书, 第二版, 卷3, 421 - 430页, X主编, John Wiley & Sons, 纽约, 1989). 一小批这种材料可以为实际上任何应用场合提供充分的柔性.

5 这些材料的表面特性可以针对具体的应用场合予以改性. 比如, 适当的表面改性可以或是激励或是抑制细胞和/或蛋白吸收. 表面改性可以通过硅烷化处理, 以及用惰性气体等离子体(亦即电流穿之而过而造成离子化的各种气体)从事离子移植和化学处理而予以实现. 一种强相关已经建立在水接触角与细胞吸附之间, 此时亲水性表面显示出的细胞吸附作用显著地小于疏水性表面(见下文: Ikada, 1994, 生物材料, 15, 725). 硅、硅土和石英可提供基本上高能、亲水性表面. 表面特性的改变可以通过氢氧化(由高温下的NaOH处理所实现的)或硅烷化而达到. 硅烷和硅氧烷特别适于增大一种在相反情况下是疏水性表面的亲水性. 这些化合物包括一或几种易反应的主要族群, 它们接合于(以化学方式或通过氢键)某一基底, 比如烷基(-CH<sub>2</sub>O-)的核心区.

10 这些化合物还提供了更复杂的改变表面特性的方法(诸如用官能基的变化来获得感兴趣的表面特性). 广为多样的官能基可以引入表面上, 包括乙烯基、苯基、甲撑和甲氧, 以及在一些形成混合型功能的表面处予以采用. 这些官能基不仅可改变象液体接触角这样的整体特性, 而且还提供优选分子吸附的场所, 其作用是本身具有的, 或是由于具体的键合部份如肽、抗体等的进一步共轭而得到的. 硅化最为经常地通过在稍高温下浸没在一种水溶液中予以实现. 硅烷和硅氧烷涂层的耐化学性是由化学吸附分子之内的键结性质来确定的(Arkles, 1972, Chemtech I:125). 应当指出, 诸如疏水性这样的特性, 当有机硅烷接触于相当具有腐蚀的酸类时, 会保持很长时期, 这意味着, 在这些环境中单一使用或有限使用的应用场合是可能的.

25 塑料基盘片也可容易地予以处理以取得所需的表面性质. 惰性气体或活性气体等离子体通常用于通过形成各种表面复合物, 比如为增大亲水性的富羟基表面或为增大疏性的全氟化表面, 来改变表面能. 表面接枝聚合是一项技术, 用于把具有所需表面性能的聚合物或预聚合物接枝到基底聚合物上, 此基底聚合物是因其大量可加工性和各制作特性而被选用的. 工业上用于激发接枝聚合的各种方法包括伽玛辐照、激光辐照、热或机械处理、光化学方法、等离子体或湿式化学方法(进一步讨论见: 聚合物科学百科全书, 第二版

30

(订补), Wiley & Sons; 纽约, 1989, 675 - 689 页)。聚合物表面和适当聚合物的化学改性包括氧化(聚乙烯)、还原(氟聚合物)、硫化、脱氢卤化(聚(偏二氯乙烯)的脱水氟化), 以及水解。虽然表面的化学性质通过化学改性予以改变, 但机械特性、耐久性和耐化学主要依赖于基底塑料。比如, 聚(乙二醇)(PEG)在聚乙烯的表面接枝处理会产生一种既亲水(不象聚乙烯)而又对于水具有抗力(PEG 本身可溶于水, 而聚乙烯不然)的表面。最后, 有机聚合物表面的也可实现硅化, 形成广为多样的表面能/化学性的组合。

本发明提供了包括各薄膜盘片的一些实施方案, 它们包括“各层”码放在坚固支座上的微型系统盘片, 由于可保存盘片并有效和廉价地使用作为消耗品包含在微型系统之中的盘片, 而常用于序列测定。这种盘片的图例示于图 17L。这种盘片能够加以专门标识, 比如, 直接在盘片上印上条码。

为多样应用场合所制作的盘片的各具体范例提出在以下各实施例之中。

#### 与盘片相关的装置和元件

本发明的微型系统平台(微型平台)配有许多自动部件, 或是直接制作在盘片上, 或是作为预制的各模块安放在盘片上。除了作为盘片的各组成部件之外, 某些装置和元件可以设置在盘片外部, 最佳方式是设置在本发明的装置上面, 或者安放得接触于盘片。

##### 1. 温度控制元件

温度控制元件, 特别是加热元件, 包括加热灯具、激光直接加热器、Peltier 加热泵具、电阻加热器、超声加热器和微波激发加热器。冷却元件包括 Peltier 装置和热阱、热辐射翅片和其他促进热辐射损失的部件。热力装置可以施用于盘片总体或盘片上的各特定区域之内。热力元件可以直接制作在盘片上, 或者可以单独制作并成一体地装在盘片上。热力元件也可以设置在盘片外部, 盘片上任何特定区域的温度由电阻温度装置(RTD)、热敏电阻、液晶双折射传感器或由采用 IR 专用检测器的红外探测方法予以监控。在盘片任何特定区域处的温度可以由反馈控制系统予以调节。一种微型尺度的热控装置可以直接制作在盘片上、制作在一微型芯片上并形成一体地装进盘片, 或者通过一设置在盘片外部的装置予以控制。

##### 2. 过滤器

过滤器、筛分器或其他用于选择性地阻挡或协助颗粒物质包括细胞、细

胞团块、蛋白团块、或者其他包括液体在内的颗粒物质通过的装置施用于本发明的微量分析和微量合成盘片上。这些过滤装置包括微型筛分器，它们直接制作在盘片上的液体处理构件之中(比如，美国专利 5304487，国际申请，出版物编号 WO93/22053，Wilding 等人，1994，自动分析技术，40, 43 - 5 47)，或者分别制作并组装到液体处理构件里面。筛分器配有大量尺寸分离孔眼并可供选择地按序列配置，以便根据样品各构成部分的尺寸来分级样品。

其他类型的过滤器包括一些材料，其可基于过滤材料与样品各组分之间的静电力选择性地除去样品组分。筛分材料的静电构造可以是材料固有的，或者由于通过电子电路发送给材料的电荷而赋予的。由过滤材料所捕集的物质可以不可逆地被粘住，或者可以任由选择地冲洗掉以便通过调节缓冲液的组成和离子强度，或者在一种经过以电子方式调节的材料的情况下，通过调制材料的电子状态而作进一步的处理。10

在本发明微型系统平台的过滤器的另外一些实施方案中，样品的特定组分，由于相互作用于衍生出来而被保留在盘片部件的表面之内的蛋白、肽、抗体或其片断，可以保留在本发明盘片的一段、微型槽道或储囊之中。由这种特定结合所捕集的物质可以从盘片表面冲洗掉并通过免疫学或色谱学的各种常用方法使用适当选出的离子强度缓冲液而传输收集储囊中。15

本发明还提供一些隔间，由微型槽道的各段或腔室或储囊形成，其中腔室的进和出口由过滤装置予以限定。在某些实施方案中，因此形成的腔室包含一种试剂诸如一小滴和特别是这样的一小滴，它涂有一种化合物，诸如一种抗体，其对于某一杂质、未使用过的试剂、反应副产物或在某一最终产物中不需要的其他化合物的具有亲合力。在使用包括这样一种过滤器限定腔室的盘片时，包含需要的和不需要的各化合物的混合物的液体借助于转动盘片的向心力移动穿过此过滤器腔室。不需要的各化合物被亲合材料粘住，而所需要的各化合物借助于由向心力推动的液流被冲洗而离开腔室。另外，需要的化合物可以保留在这样一种过滤器限定的腔室之中，而不需要的化合物被冲走。在这些实施方案中，比如通过阀门的开启而为腔室设置了出路。20 25

### 3. 混合器

多种混合元件很有益地包括在本发明微型系统盘片的各实施方案中，这些盘片当反应室从试剂储囊中加料时需要在反应室中混合各组分。静态混合器可以通过向构成此混合器的各微型槽道或腔室施用网纹表面而装进盘片30

的液体处理装置。两或多条槽在盘片某一位置处可以连接起来，而它们的各组分通过由混合槽道或腔室的网纹表面所施加给它们的流体动力活性和由转动盘片所施加的向心力而混合在一起。混合也可以由迅速改变转动方向和由盘片外部的装置以物理方式搅动盘片而予以实现。

- 5        在其他一些实施方案中，弯板式波动(FPW)装置(见 White, 1991, 美国专利第 5006746 号, *ibid*)可以用来在本发明的盘片上混合各液体。FPW 装置利用安放在一极薄膜片的两端中任意一端的铝和压电二氧化锌变换器。变换器可发送和检测沿着膜片传播的板式声波。膜片的刚度和单位面积质量决定了板式波的速度。当连接于放大器时，这些波形成正比于声波速度的一种
- 10    延迟线振荡。基于 FPW 现象的装置已经用以检测压力、加速度、有机化学产品蒸气、蛋白的吸附作用、液体的密度和粘度，以及用以把各种液体混合在一起。FPW 装置可以成一体地装在盘片上，或者可以设置在盘片附近，以实现在盘片上特定各反应室中各液体组分的混合。

#### 4. 阀门装置

- 15        控制液体在盘片上的运动和传输一般包括使用阀门装置(微型阀门)来允许或阻止各部件之间的液体运动。这种微型阀门的一些实例包括压电致动器，其包括夹置在两个硅片之间的玻璃板，如 Nakagawa 等人所述(1990, Proc. IEEE Work shop of Micro Electro Mechanical Systems, Napa Valley, CA PP - 89); 这样一种阀门的示意简图示于图 6。在此实施方案中，下部硅片和玻璃板可以具有一或两个进口和一条蚀刻在它们之中的槽道。上部硅片可以具有圆形中心台板和围绕它的同心台板。压电叠堆的底部可以安放在中心台板上，而其顶部借助于圆形桥接件连接于同心台板。 $\text{SiO}_2/\text{SiN}_2$  拱形构件的中心连接于压电元件。阀座是由镍或其他密封物质制成的。在三通式实施方案中，液体在无施加电压的情况下从中心进口流向出口。在施加电压时，压电
- 20    元件下压在拱心上，使两端抬起，堵住中心进口而让液体从周边进口流动。在另一些双路实施方案中，液体在无施加电压的情况下流动并在施加电压时受到限制。在一种双路阀门的另一实施方案中，液体在无施加电压时受到限制，而在施加电压时被允许流动。在这些实施方案的任何一种中，压电叠堆可以垂直于转动平面、倾斜于转动平面，或者保留在转动平面之内。

- 30        在另一实施方案中，液体控制是使用气动微型阀门予以实现的，其中液体槽道蚀刻在一层在控制点处具有一高出阀座的材料上面(这一类型阀门的

示意简图示于图 7)。相应的孔眼钻在另一层里面, 最好是利用激光来取得直径充分小的孔眼, 从而形成气动通路。往那第二构件上离心沉积一层硅橡胶或其他弹性材料。这些构件然后粘合在一起。液体运动会因施加空气压力而中断, 气压可把弹性膜片下压到高出的阀座上面。这类型的阀门已由 Veider 等人予以说明(1995, Eurosensors IX, PP. 284 - 286, Stockholm, Sweden, June 25 - 29)。Veider 等人所作的测定表明, 类似的阀门完全接近于施加超过液体进口压力的 30 仟帕的压力。这一阀门对应于 207 磅/平方英寸, 并可通过改变气压孔眼直径和此膜片层的厚度而予以调节。气动压力施加于盘片以启动这些阀门, 如图 8 示意性地所示。

10 气压致动也可以由利用如图 9 所示的双金属致动装置的经微细机械加工出来的气阀来予以体现。此阀包括匹配于阀体的隔膜致动器。此致动器可包含当施加电压就会发热而造成隔膜挠曲的各集成电阻元件。这种挠曲可导致致动器中的中心构件在阀门开启时发生紧密接触, 从而调节液体通过孔口的流动。这些阀门使得可能根据电压输入, 一般是 0 - 15 伏直流, 成比例控制。这些类型的阀门可从市场上购得(Redwood Microsystems, Menlo Park, CA; ICSensors, Milpitas, CA)。

20 气动膜片式阀门的各实施方案可以包括在单独盘片上两个部件的集成, 或者可以包括两个对中的盘片, 以致一个盘片的两个气压出口对中于第二盘片以紧密接触另一盘片的气动孔眼。在两实施方案的任一项之中, 气压源可以经由诸如特氟隆®材料制成的各同心圆环发送给盘片。在此实施方案中, 静立芯体和旋转元件连接于盘片。气压通过静立芯体的内部发送并由各槽道引向静立芯体的外部边缘。适当布置的各槽道经机加工制成在旋转元件里去并紧密接触静立芯体中的各槽道而把气压引向气阀。

25 另一阀门实施方案是一种压力平稳衡式微型阀门, 示于图 10。这一类型的阀门由三层材料制作而成, 包括两层硅, 由一薄层电绝缘氧化物(亦即, 二氧化硅)隔开。一玻璃层粘合在阀门顶部上面并很有助益地包含进口和出口。在中间硅层中加工成形的中心柱塞通过在各硅层中间施加电压而使之移位而进入包含在下部硅层上的间隙之中。另外, 柱塞可以通过在下部硅层中间隙内形成气压降而使之移位。经过微细机械加工制成的各部分的不可逆的胶着可以通过向玻璃构件施用一薄层 Cr/Pt 而予以防止。作为一种以静电方式驱动的装置, 这一类型的阀门具有许多优点, 包括它可以在制作盘片中直

接接线。在此实施方案中，致动器是一种微细调谐装置，需要最小的能量以便甚至在较高压力下打开阀门。这些类型的阀门已由 Huff 等人作出阐述 (1994, 7<sup>th</sup> International Conference on Solid - State Sensors and Actuators, PP. 98 - 101).

- 5        另一类型的一次用阀门，称作聚合松弛阀门，总体上适合于盘片和各流体装置，在此予以阐述并示于图 11。这种阀门基于非平衡聚合结构的松弛作用。当聚合物在低于其玻璃转变温度( $T_g$ )的温度下被拉紧时，导致非平衡结构时，会观察到这种现象。当加热而超过  $T_g$ ，聚合链发生松弛并随着结构发生平衡而观察到收缩。这种现象的一种普通实例是聚烯烃的收缩(用于热缩管或封装)，其聚烯烃结构在室温下是稳定的。不过，当加热到 135 °C，结构就发生收缩，PR 阀门聚合物的实例包括，但不限于，聚烯烃类、聚苯乙烯类、聚氨基甲酸酯类、聚(氯乙烯)和某些氟聚合物。
- 10

制作 PR 阀门的一种途径是，放置聚合物片材或层压层盖住需要这种阀门的槽道(如图 11 所示)。圆筒形阀门随后以堵住槽道的方式冷冲出来。阀门由施加局部热量使之启动，比如通过激光器或通过接触于电阻加热元件。阀门随后收缩而使液体流动成为可能。

15

- 另一类在本发明盘片中有用的微型阀门是一种一次用阀门，在此由毛细微型阀门(阐述于美国临时申请系列编号 06/00x.xxx 之中，1996 年 8 月提出，在此引入作为参考)。这一类型的微型阀门基于利用于转动引发的液体压力来克服毛细作用力。完全或部分地湿润容纳液体的各微型槽道(或各储囊、各反应室、各检测室等)中材料的液体，当从狭窄截面的微型槽道流向一个较大截面时，经受一种流动阻力，而不湿润这些材料的那些液体会阻抗从各大截面微型槽道(或各储囊、各反应室、各检测室等)到那些具有较小截面者的流动。这种毛细压力反比于两种微型槽道(或储囊、反应室、检测室等，或者其组合)的大小、液体的表面张力和液体对于各微型槽道(或各储囊、反应室、检测室等)材料的接触角。一般说来，截面形状的细节并不重要，但是对于截面尺寸的依赖导致尺寸小于 500 微米的各微型槽道表现出相当大的毛细压力。通过改变本发明微型系统平台各部件的横断形状、材料和截面面积，“阀门”加工成形得需要施加特定压力在液体上以引发液流。这一压力是依靠盘片转动而施加在本发明的盘片上的(前面已经证明，此压力随转动频率的平方、随径向位置和随液体在径向上延伸长度而变化)。通过改变毛细阀门截面
- 20
- 25
- 30

尺寸以及沿着本发明微型系统平台液体处理部件径向方向的位置和延伸长度, 毛细阀门制作得以一种依赖转动的方式释放液流, 采用的转动速率从 100 转/分到几千转/分。这种配置使得可以采用在转动速率方面的预定的单一增长来实施复杂的多步骤液体过程。

- 5 本发明所提供的盘片微型阀门的控制或是利用盘上各控制元件、各专用装置控制器, 或是利用它们的组合来予以实施的。

## 6. 控制系统

- 集成的电子处理系统(在此总称为“控制器”), 包括微处理器和 I/O 装置, 其可以直接制作在盘片上、可以分别制作并组装在盘片里面或上面, 或者可以完全设置在盘片以外, 最为有利的是作为微型操作装置的一个部件。这种控制器可以用以控制转动驱动马达(既控制速度、延续时间, 也控制方向); 系统温度; 光学作用; 数据获取、分析和贮存, 以及用以监测与盘片成一体
- 10 的系统状态。转动控制器的一些实例是, 采用靠近马达本身的一些转动传感器以便确定转动速率的控制器, 以及用于驱动这种马达的方向和速度的
- 15 马达控制芯片(比如, Motorola MC33035)。这种传感器和芯片一般以一种封闭回路的形态予以使用, 使用传感数据来把盘片转动控制于一转动设定点。同样, 出自这些传感器的转动数据可以利用频率-电压转换芯片(比如, Texan Instrument, Model LM2917)从一脉冲数字系列转换成模拟电压。在此情况下, 模拟信号随后形成反馈以控制对应于所需转动速度的一模拟电压设定
- 20 点。控制器也可以类似于用在市场有上售的声盘(CD)放送机之中的方式利用编码在盘片数据携带表面中的数据。在这些实施方案中, 激光器所读出的数字数据用以通过锁相回路来控制转动速率。在数据读取字节的频率中固有的转动速率信息可以转换成模拟电压, 如上述。

- 控制器还可以包括允许进出外部数据库和用于远程数据传输的调制解调器的通讯部件。具体地说, 控制器可以集成在光学读出装置中以便检索包含在盘片上的信息, 并把由盘片上分析装置生成的信息写入到与盘片成一体的光学数据贮存部分。在这些实施方案中, 将会理解, 读出和写入两种功能都是在与包括在此阐明的微型系统各部件的表面相反的盘片表面上完成的。
- 25

- 30 有关控制盘片上任何特定微型分析装置的信息(亦即, 指令和数据二者, 总称为“资讯”)可以最为有利地依靠微处理器和/或本发明盘片装置的存储

器贮存在盘片本身上面或者贮存在外边，或者贮存在连接于此装置的一部计算机之中。这种信息由控制器用来控制盘片上微型阀门的定时和开启/关闭状态，以确定盘片最佳转动速度、控制盘片上的加热和冷却元件、监控检测装置、集成由盘片生成的数据和基于收集到的数据实施逻辑构成。

## 5 7. 电源

装在盘片上的各装置的电力需求可以通过紧密接触于与盘片成一体的各连接装置的电刷发送到盘片。另外，通过微型平台与把盘片连接于转动驱动装置的转动心轴或盘心之间的触点，可以实现电气连接。电池可以成一体地装进盘片以提供一种自载电源。电池还可以用来向用以操作盘片的装置供电。与本发明的一起使用的电池是可以重新充电的，诸如镉或锂离子电池或常用的铅-酸或碱电池。

发送给盘片的电力和可以是 AC 或 DC。既然电力需求是由嵌装在盘片上的具体测定装置来确定的，电压的范围可以从几微伏到几兆伏，比较可取的是从几毫伏到几千伏。电流的范围可以从几微安到几安培。电源可以用于部件工作，或者可以用以控制和指引盘上电子装置。

另外，由于盘片转动，在盘片上可以生成感应电流，此时电流由一感应线圈或由各个电刷形成。这种电流可以用来向盘片上的装置供电。

## 8. 检测器和传感器

用在本发明微型系统平台上的检测装置包括光谱式、电化学式、物理式、光散射式、放射式和质量光谱式检测器。采用这些检测器的光谱方法包括电子光谱分析(紫外和可见光线吸收、冷光，以及折光指数)、振动光谱分析(IR 和 Raman 式)以及各种 x 射线光谱分析(x 射线荧光分析和采用经过微细机加工而制成的场发射器 - 诸如由 NASA Jet Propulsion Lab, Pasadena, CA 所研究制的常用 x 射线分析。

下面叙述与本发明微型系统平台一起使用的检测的一般类别和各自的一些具有代表性的实例。这些类别是基于传感器类型(光基的和电化学的)而划分的。此外，利用本发明各检测器的检测实施装置可以是在平台外部的、邻接于它的或与盘片平台成一体的。

### a. 光谱分析方法

#### 30 1. 荧光

为宏观用途所研制的荧光检测装置在现有技术中是为人所知的并适于

与本发明的微型系统平台一起使用。图 12A 和 12B 表明具有代表性的两种荧光结构。在图 12A 中，激发源，诸如一束激光，聚集在盘片的光学透明的部分上。出自电磁光谱的任何有助于分析的部分的光线都可配合于对于特定波长特别透明的盘片材料，使得此光线的各光谱特性由通过光热加以探测的、占据储囊的产物或试剂予以确定。另外，选定具有特定波长的光线可以配合于一种具有可导致照射光线完全内部反射的几何形状和折光指数特性的材料。这使得可通过损耗性光线传播检测盘片表面上的材料，或是通过样品本身作多次反射，后者大大地增加了路径长度。

适合于损耗波装置的结构示于图 12A(见 Glass 等人, 1987, 应用光学 26 2181 - 2187)。荧光反馈到盘片上的波导之中，借以提高检测的效率。在这些实施方案中，领先检测器的光学部件可以包括允许光谱解链的发散元件。荧光激发也可以通过每当噪声不以与信号同样的方式与路径长度一起改变比例时，从装置中各表面的多次反射而予以扩增。

另一类型荧光检测结构示于图 12B。具有荧光激发波长和发射光线波长二者的光线通过装置的一个端面予以导引。90 度的角度用以分离激光和集合光学波列。也可能采用另一些的角度，包括 0 度，使激发和发射光线共线引进。只要源光可以从荧光信号中辨识出来，任何光学几何要素都可以使用。适于光谱测定所用各波长透明的一些光窗在盘片上适当位置处(亦即，在各检测室的各“读出”储囊实施例中)被包括进去。这种类型荧光在宏观装置中的应用已由 Haab 等人作了阐述(1995, Anal. Chem. 67 3253 - 32607)。

## 2. 吸收率检测

吸收率测定可以用来检测任何依靠专门吸收能量(直接吸收力)或依靠改变装置中任一部件的吸收率(间接吸收率)而改变所传输光线强度的被分析物。光经几何要素设计得可以确保吸收率检测器聚焦在一条以被照射的样品接收最大数量传输光线的光径上。光源和检测二者都可以设置在盘片以外、邻接于盘片并可以使之与盘片同步运动，或者可以与盘片本身成为一体。盘片上的样品室可以构成一个透明小容器，由在单一通路或在多条通路中检测出来的光线予以照射，并传输此光线，特别是在与一种以等于或几倍于转动频率的一个频率照射检测室的频闪光信号一起使用时候。另外，样品室可以是一平面波导，其中被分析物作用在波导表面上，而光吸收力乃是完全内部衰减反射的结构(亦即，如果被分析物被分离在样品室的表面处，被分析物可

减弱强源光线；比如被分析物是采用专门粘合于嵌置或粘附于腔室表面的一种化合物的办法而被分离的；见 Dessy, 1989, Anal Chem, 61 2191).

间接吸收率可以用于同一光学结构。对于间接吸收率测定来说，被分析物不吸收源光；相反，当被分析物在样品室代替一种辅助物质时，测定后者的吸收率的降低。因此所增加的透射率对应于被分析物浓度。

### 3. 振动光谱分析

振动光谱分析检测装置也予以设置以便从本发明微型平台的检测室或“读出”部分生成数据。红外(IR)光学设计相似于前述关于在电磁光谱 UV 和可见范围内吸收光谱分析的设计参数，针对各红外频率对于各部分作出优化。为从事这种优化，在光径中的一切物质必须传输 IR 光线。提供 Raman 光线散射信息的各光学部件的结构类似于以上关于荧光测定、阐述在图 12A 和图 12B 中的结构。不过，由于为生成足够的信号需要的照射时间，盘片的转动速率必须放慢，或者在某些情况下，停止下来。根据用途，在适合于分析本发明盘片的单独 IR 或 Raman 仪器中离线进行静态 IR 或 Raman 散射分析是最为有利的。

### 4. 光线散射

混浊度也可以在盘片上予以测定。光学装置设计得象吸收率测定那样。在这种分析中，传输光线的强度与在样品中使光散射的颗粒浓度有关。这种类型检测方法的一项应用实例是颗粒凝集测定法。较大颗粒较比较小颗粒在转动盘片上沉积要快，而在疾转盘片之前和之后，样品室中溶液的混浊度可能与室中颗粒的大小有关。如果只是在存在被分析物的情况下才引发微小颗粒的凝结，则混浊度测定可以用以专门检测某一被分析物在样品室中的存在。比如，微小颗粒可以连同一种抗体涂敷于一种被分析物，导致当来自一个以上颗粒的抗体粘合于被分析物上时在存在被分析物的情况下的颗粒凝结。在这种相互作用发生后疾转盘片时，包含被分析物的各样品室就比不包含被分析物的各样品室少些混浊。这种装置可以用标准数量的被分析物予以标定，以提供一种在一组标准化条件下与样品混浊有关的被分析物浓度的标准。

其他一些类型的光线散射检测方法在此提供出来用于本发明微型系统平台和装置。出自某一光源 - 最好是激光光源 - 的单色光线照射得遍及盘片流动槽道的载面面积。由于在诸如细胞的样品中的颗粒而散射的光线在槽道

被照射部分上的几个角度处被收集下来(见 Rosenzweig 等人, 1994, Anal. Chem. 66: 1771 - 1776). 根据标准器, 诸如使信号关联于可解释的结果的尺寸适当的磁环, 数据归纳以优化方式直接编程送入装置. 采用经过标定的这样一组磁环, 可以获得不同大小颗粒之间的精细辨别. 这种装置的其他用途  
5 是流动血细胞计数、细胞计数、细胞分类和细胞生物分析和测试, 包括化疗敏感性和毒理研究.

#### b. 电化学检测方法

电化学检测需要传感元件与样品之间、或者各传感元件与诸如与样品处于平衡之中气体这样的物质之间的接触. 在样品与检测器之间直接接触的情况下, 电极装置直接装在盘片上、在转动之前装接于盘片或在盘片已经停止  
10 转动之后予以推移而接触盘片. 使用气体蒸气来为样品信息编码而制成的检测器可以作成使检测器在盘片之外, 只要此气体蒸气设计得既接触样品室也接触检测器. 与盘片接合的检测器包括测量电势的、测量电压的和测量电流的装置, 并且可以包括任何适应用于制作微型系统盘片的材料的电化学变换器.  
15 器.

##### 1. 电势测量

用于本发明微型系统平台的一种类型的电化学检测装置是一种电势测量装置. 这样一种装置提供一种手段, 用于确定通过仪器中以不同方式驱动的各流动槽道的溶液的界面性质的特征. 考虑本发明微型平台的温度受控特性, 在此装置上也可测量汽化势( streaming potentials)(见 Reigenga 等人,  
20 1983, J. Chromatogr. 260:241). 为了造成汽化势, 在盘片靠内和靠外部分处接触溶液的两根铂导线之间的电势差对比于参照电极而测量出来. 随着液体在受控的向心运动作用下流过槽道, 汽化势响应于液体与运动区域中的盘片各表面的相互作用而产生出来.

25 另外, 铂电极用来生成场致发光离子(见 Blackburn 等人, 39: 1534 - 9). 然后取决于化学荧光信号的波长, 使用上述的各光学检测器之一来检测光学荧光. 各电压测量部件也用于本发明微量合成平台以生成反应中间体或产物.

##### 2. 电化学传感器

30 电化学传感器也最好是装进盘片里去. 在一项实施方案中, 提供了一种利用氧化还原环化反应的电化学检测器(见 Aoki 等人 Rey Polarogr. 36. 67).

这一实施方案利用在含有感兴趣的一种物质的经过微细机加工制成的腔室之内的交指型微型阵列电极。一个电极的电势设定于感兴趣物质的氧化电势，而另一电极的电势设定于感兴趣物质的还原电势。这是利用一种双通道恒势器来实现的，使得样品的氧化和还原的(亦即，氧化还原)化学状态可被确定，或者此腔室针对一特定物质预先设定。含感兴趣物质的一定容量的液体被送入此腔室。在电化学上可逆的物质随后通过周期性地充电各电极而予以氧化和还原。在此实施方案中，一种分子由于在此氧化还原电流方面的显然增大而被检测出来。由于一些非可逆物质在第一循环之后不会影响信号，它们对于最终信号的作用就被消除了。数据分析软件用来消除由于一些非可逆物质造成的信号。

在另一实施方案中，提供了一种多通道电化学检测器，包括用光刻法制成在一腔室之中的高达 16 条线的一种电极，每一条线的最终尺寸是 100 微米宽，条间间距为 50 微米(见 Aoki 等人 1992, Anal. Chem. 62, 2206)。在此实施方案中，包含某一感兴趣物质的一定容量的液体被送入此腔室。在腔室之中，每一电极设定不同的电势，以致可以制成电化学测量的 16 条独立的通道。此外，每一电极电势可以由函数发生器分步地予以清除。这一约定可产生有关各种物质的氧化还原电势以及氧化还原电流的信息。这一类型的分析也使得可以经由 Voltammogram 来识别各种分子。

### c. 物理方法

物理检测方法也予以提供以用于本发明的盘片。比如，盘片可以用作粘度计。包含有待测试的液体的微型槽道最好是装有一嵌装在盘片上的磁环。磁环通过液体的运动予以分析并根据所研制的和存放在微处理存储器之中的标准器使之转换为粘度数据(见 Linliu 等人, 1994, Rev Sci Instrum. 65: 3824 - 38)。

另一项实施方案是一种电容式压力传感器(见 Esashi 等人, 1992, Proc. Micro Electro Mechanical Systems 11:43)。在此实施方案中，硅和玻璃基底作为阳极接合于气密的基准孔穴上。压力可以通过硅隔膜与在玻璃上制成的一个铝电极之间的容抗变化予以检测。CMOS 电路的容抗-频率转换输出可以成一体地制成在硅基底上，或者装在盘片以外的电子控制装置之内。

通过合适地安放压力传感器，由于离心作用造成的压力可以在盘片上任何位置处予以确定。与微型槽道直径信息和盘片上各槽道取向形状相结合，

压力数据可以用来确定在一特定转动速度下的流率。这种信息随后由微处理器用来调节盘片转动速度以控制盘片上的液体运动。

表面声波(SAW)装置也予以提供, 作为本发明微型系统平台的部件。这些装置可以安放在盘片上以检测各种顶上空间(head-space)的气体, 或者装进  
5 仪器上的液体槽道。当安放在液体系统之中时, SAW 用来检测溶液中的密度变化, 这种变化显示出缓冲剂、试剂或反应物组分的变化(见 Ballantine 等人, 1989, Anal. Chem. 61: 1989)。

盘片上或捕集在围绕盘片的顶上空间之中的挥发性气体可以以几种方式予以监控。比如, 设置得接触于盘片上方各气体溶液的一种的 Clark 电极  
10 可以用来检测氧含量(Collison 等人, 1990, Anal Chem. 62: 1990)。

#### d. 放射性检测部件

本发明的微型系统平台也可装有放射性检测器。本发明盘片上的被分析物或合成产物的放射性衰减可以采用 CCD 芯片或能够随时间流逝集成信号的类似单通道二极管检测器予以检测。另外, 放射性可以通过安放固态检测  
15 器与放射性被分析物相接触而直接加以确定(见 Lamture 等人, 1994, Nucleic Acids Res 22, 2121 - 2125)。

#### 模块结构

作为本发明平台的各部件而配置的各分析装置包括控制器、检测器、缓冲器和试剂储囊、腔室、微型槽道、微型阀门、加热器、过滤器、混合器、  
20 传感器和其他一些部件的各种组合。构成盘片上一种分析装置的各部件可以包括以下一或多种: 全部制作在盘片上的完整集成装置; 制成为一个部件并组装到盘片里面或上面的完整集成装置; 直接制成在盘片上面并与制成为一个部件并组装到盘片里面或上面的一部件分组相互邻接的一部件分组; 通过一同步疾转的盘片从外部邻接于盘片的各部件, 以及从一相对于盘片(比如,  
25 转动的心轴)保持静止不动的位置上邻接于疾转盘片的各部件。

#### 方法和应用

由于其灵活性, 本发明提供了无数种可能的用途和实施方案。不过, 某些性能对大多数实施方案来说是共同的。这些性能包括样品采集; 样品应用于盘片, 在样品应用时加入适合性测试; 在盘片上实施的多种专门测定法;  
30 数据收集, 处理和分析; 数据传输和贮放于存储器, 即一部分盘片, 或进一步到通讯软件的远程站; 数据输出给用户(包括打印和屏幕显示); 以及样品

盘片用后处理(需要时, 包括盘片消毒).

5 样品或被分析物使用适于特定样品的装置予以采集. 比如, 血液在医院或实验设施里是采集在真空管中, 而家庭或顾客用的是刺血针. 尿液可以采集到消毒的容器之中并利用通常的输液技术施加于盘片上. 唾液最好是在用少量的蒸馏水、温和洗涤剂 and 矫味糖的溶液稀释之后施用于盘片. 这种溶液可以制成一种用于检测抗原、生物分泌物和微生物的漱口液. 另外, 一种由鱼网式聚物质制成的小袋, 装有洗涤剂, 和一种可嚼树脂可以由使用者咀嚼促进唾液生成, 然后从口中取出并回收唾液和按通常方式加以应用. 胎盘液体和脑脊髓液在必要时使用合适的医学方法由专业人员加以采集.

10 环境和工业样品从地下水或工厂排放水收集到制作得可避免在样品中浸渍杂质的容器之中. 土壤样品收集和混合于一种设计得可溶解感兴趣的被分析物的溶剂中. 各种工业应用, 诸如热原的筛选, 可以使用专门的取样孔口予以完成.

15 样品或被分析物由使用者装放在盘片上. 样品最好在装放到盘片接近转动中心的位置处, 借此使得最大部分的向心力施加于样品, 并且形成越过盘片表面的最长路径, 以便使得可以用来与样品相互作用的各液体处理部件的数量、长度或配置达到最大(多). 采用一种示于图 13A 至 13C 的多项装料装置, 多项样品可以施加于盘片上. 在这种一种多项装料装置的实施方案中, 许多吸收液管筒等距隔开并沿径向排列. 这些吸液管间隔开来, 造成这些吸液管的尖端配装到盘片表面上的各进口孔中. 尖端可以是简单的针器, 由于表面特性与液体特征的结合而可以吸住特定容量的液体. 另外, 尖端可以是常用的空心管, 诸如毛细或塑料圆锥尖端, 而液体可以响应于正或负压以手工方式加以操纵, 如同使用手动或自动吸液器具取样. 装料器可以手动方式或由机器人装置予以操作. 这些管筒也可以以灵活方式予以排列, 使得各尖端在形状上呈直线阵列, 而在另一种形态上呈径向阵列. 在每一实施方案中, 装料器包括一对中装置以确保各装料尖端在本发明盘片上的安放是可以再现的.

30 装料器是为被观查的物质专门设计的. 实例包括医学用途(其中样品包括血液; 体液, 包括胎盘液、脑脊髓液、肺膜液、心膜液、腹膜液、精液和关节液, 再加血液、汗液、唾液、尿液和泪液, 以及组织样品, 还有粪便), 以及环境和工业物质(包括大气中各种气体、水和水溶液、工业化学品, 以及土

壤)。装料装置也最好是适应于标准的血液处理设备，诸如装有封隔膜的真空管筒，并且依靠刺破封隔膜存取其中的样品。装料装置还适应于底座采集器具和装置，诸如刺血针，以便获得少量血样。盘片也可以具有组成一体的刺血针和橡胶密封，以便直接采集血样。

- 5        动态以及静态的盘片装载，被认为在本发明范畴之内(见 Burtis 等人, 1974, Clin Chem, 20, 932 - 941)。

由于本发明包括如上所述的微型系统平台和微型操作装置的组合，后者用于操作此平台以便把向心力加于平台上的液体而进行运动，所以各部件的配置可以选择得设置在盘片上、在装置上，或者二者都有。机械的、电子的、  
10 光学-电子的、磁的、磁-光学的，以及其他各种装置都可装在盘片里面或盘片表面上。一些盘上装置已在前面详述，此外，盘片还可以装有电子电路，包括用于协调盘片各项功能的微处理器，以及用于联系盘片微型操作装置和其他装置的装置。盘片最佳地包括；检测器和传感器，或者这些装置的各部件和用于多样检测方案的能源(诸如电化学装置的电源，用于光谱分析装置的  
15 电磁辐射源)，或者各种可促进使用这些检测器和传感器时生成数据的操作的材料，诸如透光材料；致动器，包括机械的、电气的；以及电磁装置，用于控制盘片上的液体运动，包括阀门、槽道和其他液体隔间；通讯装置和数据  
20 处理装置，作为盘片与放送/读出装置之间联系的媒介，采用电磁的(激光、红外、无线电频率、微波)、电气的，或者其他装置；设计得用于控制盘片上程序和过程的电路，这些程序和过程包括系统诊断、测定、约定，以及测定数据的分析。这些都以下述形式予以配置，即只在制作地点处加以编程的 ASIC 或 ROM；FPGA 的 EPROM、块擦写存储器(UV - 可擦 EPROM、或者可编程 IC 阵列、或者可由使用者通过平台操作装置或其他装置予以编程的其他阵列。本发明的各部件还包括 CPU 和微处理器和使用一种汇编语言或  
25 高级语言工作的、可通过盘片通讯装置编程的相关的 RAM，以及用于中介通讯装置与其他装置的一些部件，其他装置包括传真机与远程显示器或数据分析装置通讯的现代装置。

盘外装置包括微型平台操作装置本身和其他一些可存取信息、写入信息或起动盘片上各种过程的装置。图 15 表明各类属于微型操作装置部分的装置和附属装置，并且指出这里各部件是如何相互作用的。“相互作用”在此  
30 用来意指盘片与装置之间或者装置本身的各部件之间的“数据”交换。这些

部件之间的关系在此予以说明，接着是各部件的详细范例。

这些包括机械驱动装置和用于转动监测和控制、全面系统控制、数据读出/写入装置、用于盘片的外部检测器和致动器、用于处理编码数据和化验数据的指令性数据的和验明成分处理器、中心处理机、用户界面的电路，以及

5 用于联络盘片、用户和其他设备的装置。机械驱动装置和相关的电路包括精确地控制和监测盘片转动速率和角度位置的装置，以及从盘盒、转台或其他多盘片贮放装置中选定和安装多盘片的装置。系统控制装置可提供全面装置控制，或是经过预先编程或是可进入用户界面。盘片读出/写入装置用以从盘片或其他媒体读出编码信息。最佳情况是，包括写入盘片性能，允许一部分

10 盘片包含从盘片上所从事的各种化验中生成的分析数据。这一方案在盘片受到生物或其他有害物而又没有用于中和这种有害物质的手段(诸如消毒)的盘片应用场合下并无裨益。此装置还可包含各外部致动器，包括光学的、磁力-光学的、磁力的和电气的部件以致动盘片上的各微型阀门和起动盘片上的各种过程，以及各外部检测器和传感器或各检测器和传感器的一些部件，它们结合包括分析和诊断装置在内的盘片上其他一些部件一起工作。盘片操作

15 装置的这些方面的几个示于图 14A 至 14F。

盘片数据处理器也甚为有利地装进本发明的各装置之中，使得可能处理和操作编码的盘片数据。这些部件包括为微型操作器 CPU、可编程电路(诸如各种 FPGA、各种 PLA)和指令型芯片组(诸如各 ASIC)所使用的软件。还

20 设置了化验处理器，用于处理从盘片上所从事的各种事件和过程中生成的和由各外部检测器检测的或从盘上各部件传递的数据。此装置还甚为有利地包括中心处理机或计算机，其允许从事盘片数据处理和化验结果数据分析(通过预先编程)，此外，也可以设置计算机的常用功能(文字处理、图形制作等等)。

用户界面，包括键盘、光笔、监视器、指示器、平板显示器；经由各种

25 通讯方案达到主机或外围设备的界面；以及打印机、描绘器和图形设备，都予以配置而作为本发明微型操作装置的部件。通讯和远距通讯装置经由标准的硬连线界面(诸如 RS - 232、IEE - 488M SCSI 总线)、红外和光学通讯装置、短程或长程远距通讯装置(“细胞式”远距通讯无线电频率)，以及用于人工或自动电话通讯的内部和外部调制解调器。

30 盘片信息包括既有写入盘片以协助在盘上所设定的、各种微型系统化验操作的软件，也有在用户使用微型系统期间所生成的化验数据。盘片信息包

括写入盘片的资料(如以光学方法编码的数据)和盘片所固有的信息(比如, 阀门的当前状况, 可以通过磁性检拾或通过阀门位置处涂敷材料的反射性予以存取), 写入盘片的数据可以包括但并不限于声/视/测试和机器格式信息(比如, 二进位的、 binhex、 汇编语言), 这种数据包括用于起动各控制程序以使盘片旋转或完成各种化验的系统控制数据、关于盘片结构的信息、盘片标识、用法、分析约定和编程、约定说明、诊断程序和测试结果、使用地点信息、分析结果数据, 以及背景信息, 获得的数据信息可以作为模拟或数据信息贮存起来, 并可以是原始数据, 已处理数据或者二者的组合。

系统控制数据包括同步化数据以使微型操作装置在正确角速度/速度和加速度和涉及盘片各物理参数的情况下发挥作用。盘片结构和适应性数据包括关于盘片类型(盘上装置、阀门以及试剂室、反应室和检测室的结构)的数据, 用以确定所需测试约定的可用性; 这种数据可以提供这一类型盘片和盘片各种能力的某一功能标识。它也可以是交互式反馈系统的构成部分, 用于在起动盘片上一项化验之前检查微型系统平台各部件。盘片标识和系列编号编码在每个盘片上, 以使盘片可由制作日期、盘片类型和用途这些数据由制造者编码, 以及用户信息 - 这由用户写入盘片, 予以确切标识。包括在盘片数据中的还有用户用盘片所完成的各种操作流程的历史。包括在盘片数据中的是用盘片所完成的各种操作流程的历史, 一般为机器认可(亦即, 多少和哪些化验留下来未予使用或备好以供使用), 以及由用户写入的信息这两种。

图 30 - 32 显示编码在盘片上, 用于控制驱动盘片的装置的软件的作用。图 30 显示处理流程。控制程序, 作为数据编码在盘片上, 通过常用的装置读出, 比如用光学储存媒体(诸如 CD 或“激光视”盘)的激光, 并以通常的方式解码, 以便装入微型操作的随机存取存储器(RAM)。这程序然后予以执行。在某些应用场合, 程序执行到结束是自动的并与用户没有主动的人机对话。在另外一些应用场合, 为运行程序, 用户有多种选择可予以参与。作为一项实例, 用户的选择, 诸如是运行一种完全的或者有限的一组诊断、测试工序、分析或其他盘片功能, 还是确定详细程度, 以及报告测试结果的方法, 都经过用户界面予以提供。

图 31 和 32 表明采用上述毛细微型阀门从事化验的具体一组已编程步骤, 各步骤在程序之内的其他布置对于一般熟练程度的人员将是显而易见的并容易予以集成, 比如用于发送信号以激活微型阀门和其他致动器。在此所

阐明的程序包括一些方框，其中设定不同的转动速率，用于改变时间多少以及供毛细阀门配置、混合和温育之用；各混合程序方框，它们(比如)使心轴马达实现一种振荡式加速和减速，是可能的，但未画出。这些程序方框包括输入各指令给各种电子装置(马达、各检测器等)并从各装置读出数据，并生成一种装置和过程状况的量度。在程序中表明了用于如果状况“不良”(诸如马达无法达到适当速度、通向装置的门户无法关闭、在光谱测定用的光源中检测不出电力)则终止程序的各项条款。这种“不良”状况可导致程序终止(未指出)或把程序送回用户以寻求经由界面的另外的一些指令。

在此所示的程序另外包括数据获取、数据分析和数据输出方框。具体的获取过程在此包括使用盘片上的编码信号 - 比如，关联于经过检测器的检测室的光学信号 - 以获取数据。这样，当各检测室靠近此检测器时，在一特定时间获取数据。还可连续地检取数据和利用数据中的细节 - 比如，作为时间函数的信号形状，对于一系列在一另外是不透明盘片上的窗口来说可看似一种方波 - 以确定数据的那些部分是对分析有用的。数据分析可以包括非线性最小二乘拟合、作为时间函数的数据的线性回归，或者端点分析(在一种反应的一端点时间上的数据)，以及其他一些方法。数据输出形式可以是对用户界面的“是/否”回答、数字数据，以及储存于内部和外部储存媒体。

不是这一程序的所有组成部分都装放在盘片上。比如，程序可以置放在计算机之内并设计得可以读盘片本身以获得为使用盘片所必需的转动速度分布形态。此程序的所有其他方面 - 诸如何时和如何读取和分析数据 - 可以是指令性程序为一部分，或者可以从另一媒体读取。

分析/测试约定数据是可以用一只盘片予以完成的各种测试和各种分析的说明。这些数据可以简单到只是一个给予盘片的名称；或者可以包含关于盘片用法、盘片分析和处理的一种详细说明，包括各种测试约定和各种数据分析约定在内。分析/测试约定程序可以在更为一般的软件计划中用作系统特定的子程序，或者可以馈入可编程的逻辑部分，以致装置可实现所需要的各种分析。分析/约定说明形成为关于在盘片上完成的各种分析过程的声音、影像、文字或其他各种说明，包括用于有效使用、预防措施和其他方面的背景信息、条件在内。

加密和验证数据/程序予以配置，以确保程序和由盘片完成的分析之中所生成数据的安全可靠。各加密/去密程序用于有限制地存取在盘片上装有的数

据。这些程序也用在医学诊断用途之中。

系统自我诊断功能也予以设置。系统诊断包括关于检测器功能，各试剂室的状态、各阀门、各加热元件和其他各部件的测试结果，由在诊断时使用的单独装置储存在盘片存储器之中或写入盘片。

- 5      使用地点信息在其使用地点(样品装放，比如说)处采取影像、声音和文字图像的形式编码在盘片上；比如包括地址、时间和人员在内。包括在使用地点信息之中的还有由盘片本身或由盘片放送器/自读器在实现这些过程时所记录的测试结果数据。

- 10      某些数据是为盘片所固有的并可通过微型操作装置予以存取。这些数据包括样品适合性测试数据，其记录了样品或试剂存在或不存在于适当的储囊和盘片的其他液体处理区域内，并且可以通过通过外部检测器和传感器予以存取。阀门状况也得以记录，包括在盘片内完成的某一过程间阀门状况方面的变化记录。阀门状况比如通过利用施用于磁性阀门装置的装置中的磁性检测器予以确定；状况也可以是通过盘片上的光窗可以看到的。放射性、化学  
15      或生物污染物在盘片外部表面上的存在，当由包括此装置的传感器进行检测，就可以被记录下来，以最佳方式产生警告信号被发送给诸如显示器或打印机这样的用户界面。

- 盘片数据和信息使用多种媒体予以储存，包括既有盘片资料的记录媒体(亦即一种光读盘片，最为可取的是一种读/写 CD - ROM)的反射性，也通过  
20      盘片本身利用各电子部件予以储存。信息是采用用于用计算机信息储存的各种通常或改进的技术予以编码的。影像、声音和文字信息采用由数字、音像和计算机工业所研制的各种方法加以数字化。从测试过程生成的模拟信号，诸如在光二极管检测器或光倍增管之中所观测到的信号，都通过模拟到数字转换规范予以转换，或者可以通过用于处理盘外或装置外信号的外部插口以原始或放大形式予以供给。本发明盘片操作装置的多种实施方案包括既读出又  
25      写入数据于盘片、或者从任何这些媒体类型中使用只读数据的能力。加密和鉴别代码可以用于安全目的。盘片数据储存媒体包括光学媒体，采用在表面上的反射/非反射的平处和凹处，利用改自于音响 CD、CD - ROM 和“激光光盘”技术的技术，以及条码。磁光和磁性媒体也处在本发明的范围之内，  
30      采用通常的计算机磁性储存媒体。电子数据储存装置也予以配置，利用各种部件(各部 FPGA、各种 PLA、EPROM、ROM、各种 ASIC、多种 IC 网



5 络)的内部阵列状况从事信息处理。化学记录手段,包括装置的检测器部分或腔室的简单色谱着色处理,也予以阐明以提供某一测试结果的简单的视觉记录。这简单的化学记录手段提供了一种在家作出轻易诊断的通途而无需在各种功能方面比所需要的更为高级的昂贵设备,以确定一种简单地依照化学标记的有或无来作出处理的化验法。

### 软件和通讯装置

10 提供给微型系统运行、质量控制,数据获取、处理和加工和通讯的信息和指令的软件,都包括在本发明的范围之内,为了本发明的目的,这种软件称作“机器语言指令”。控制和分析软件很便利地用诸如 C/C++、 Visual Basic、 FORTRAN or Pascal 这样的高级语言构成。如界面操纵台配置驱动器,操纵台(或是在装置之外,或是在与装置交互作用的一主计算机之外)可把主计算机总线上的指令转变为微型操作命令。此外,可以为诸如 LabView 这样的实验控制软件建立驱动器,再次采用通常的工业标准界面约定。这些应用最为可取地能够运行在许多现行的计算机平台上,包括 UNIX/Linux ,  
15 X - windows、 Macintosh、 SGI, 等等。控制和分析也可以采用主存芯片组、电路、 ROM 和 EPROM 予以实施。比如,测试有效性可以(至少部分地)通过使用以 ROM 为基础的测试程序予以确保,在这些程序中,所有的编程都是在制作地点完成的,不带最终用户出错的可能性。单独的应用软体也可以开发出来,使得出自盘片放送器的数据可以在非控制器平台上予以分析,  
20 使用现有各种的应用软件(诸如 Excel、 Clarisworks、 SigmaPlot、 Oracle、 Sybase, 等等)。

25 由于在此所阐明的盘片技术的某些应用涉及与人类健康有关的重要问题,诊断软件必须能够分析盘片的诊断方法,其各项内容(样品、试剂、装置)放送器和分析软件,以确保结果的有效性。由这种诊断软件使用的信息类型包括样品适合性和流量、盘片格式与软件/测试过程适应性的检验、盘上和盘外软件测试、盘片制作的质量控制监测(比如,槽道的安置和对中)、寿命、盘上和盘外传感器和检测器的定位和功能度、放送通讯装置和微处理器的诊断、微处理器/CPU、电力稳定性,等等。

30 机械和电子部件的诊断由本技术领域熟练人员以熟悉的方式进行。软件自我诊断采用软件程序和子程序的核对清单/检验以检测与系统硬件的不适应性(或是不适应于微型操作装置,或是不适应盘片)或者与系统软件其他

部分的不适应性而予以实现。

与样品相关的盘片诊断包括流量分析、样品适合性和试剂适合性的测定，待测定的类型和质量。与装置相关的盘片诊断包括关于检测器/传感器功能、电子部件自我测试、阀门控制和热控制测试的检查。软件诊断提供了编码在盘片或装置内的软件各部分的自我测试、劣化防护、只读和读写测试。盘片格式也利用盘片诊断方法予以检查，确保盘片格式和化验类型被正确读出并符合于保存在装置存储之中的约定。

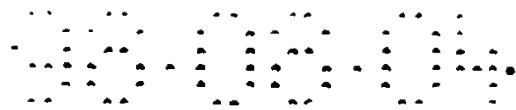
盘上软件包括用于诊断、化验控制和数据分析的只读软件，作为 ROM 可以购得，具体地说，作为 CD - ROM。只读软件设计得用于不能改变并可确保盘片的正确使用和对于用户出错的失效保护的特殊程序和方法。软件也可嵌装在编码的媒体(光学的、磁性的、等等)或另外的媒体(诸如条码)之内。可重新编程的软件(诸如各种 FPGA、各种 PLA、各种 EPROM 或各种 IC 阵列)可以由盘片操作装置或为此目的所设计的装置予以重新编程。类似类型的软件，可供选择地设置在装置上。在任一情况下都通过键盘、触垫和/或装置的其他显示部件配置于用户界面。

应用软件以只读或可重新编程的格式予以配置。包括在本发明流体微型操作装置的这一部件之中的还有可以从标准的计算机数据储存媒体读出的软件。其实例包括依靠于包含在盘片或装置存储器之内的、集成数据库的医疗或分析的诊断程序，或者从成网络的各工作站予以存取的这种程序，或者诸如通讯稿和新闻服务那样的存取联机服务，以及用于制作和分析图像的软件，包括图像识别和统计分析软件，等等。

控制和应用软件的集成可以通过或是使用一种为本发明的盘片和微型操作且所开发的专门操作系统，或是由配装现有的 OS 予以完成。最佳情况是，OS 采用编辑软件的综合文字、图形、视频、声频成为易于应用的“Point and Click”系统。这样一种 OS 也可以提供一种定向环境或其精确复制(比如，以 Labview 为基础的系统)，用于由老练用户控制程序，以及为了由盘片阅读器/放送器制造厂家或独立的软件开发人员开发辅助软件创造条件。

OS 也可以选择得允许从事盘片和以盘片为基础的化验、机械设计，包括转动动力学和稳定性仿真和液流仿真有利地被包含在盘片设计软件包之中。

本发明的通讯装置方面包括涉及从用户或向远程控制和分析地点作数



据输入和输出的硬件和软件实施方案。硬连线通讯装置细节包括通过局部总线(比如用于视频信号的 VGA)和通常的硬连线界面(比如, RS - 232、IEEE - 488、SCSI 总线)以及 Ethernet connections、Appletalk 和各种局部区域网络(各种 LAN)的高速数据视频或图像传输和通讯。远距通讯装置包括用于短程通讯的单体式收发机、用于长程通讯的无线电频率和微波收发机和用于人工或自动电话通讯的内部和外部调制解调器,还配置了视频进/出口、用于数据传输的模拟外线、用于从其他仪器输入信号的输入插口,以及光学和红外通讯孔口,用与外围仪器的联系。

#### 用于某些应用场合的微型操作装置的结构

10 微型操作装置包括如上所述的硬件和软件的多种组合。图 15 是一装置中通讯装置、检测和控制仪器设备的一般组合的图示。某些应用场合可不具有某些特点,比如,小型设备可不具有图形用户界面。微型操作装置可以是一种“独立应用”装置,或者是一种较大一组包括比如计算机、打印机和图像处理设备在内的装置的外围设备,或者是一种用于诸如控制垫、数据进入/读出装置(诸如 Newton 型装置或等价物)的主机,或者是一种集成系统。在  
15 所有实施方案中的此装置包括可使盘片以稳定和变动的速率转动的硬件和用于监控转动速率的装置。此装置还可包括起动样品和盘片诊断、实施在此所述的“外部”测试和检测、通过诸如阀门的专门致动器起动盘上分析、读出盘片固有的信息和编码盘片中的信息或其他数据/信息储存媒体信息,以在  
20 某些应用场合中把信息写入盘片。

此装置中的辅助器件,包括系统控制装置、数据处理器、化验处理器阵列、外部检测器、外部传感器、化验外线和数据外线,通讯装置和软件在内,都是由装置和/或应用场合特别规定的。

比如,在“使用地点”小型或家用场合,样品装放之后,随着是起动放送器程序。系统控制可以依靠能够存取储存在盘片或装置之中的多种程序的前板控制器和指示器予以形成。这些“硬连线”程序利用控制电路从盘片或存储器读出,或者从向盘片或存储器读出/写入各项运算,以及/或者采用外部装置进行测试。此装置可以设计得用于执行单独一项程序,或者可以预先编程以执行一组程序或采用单独一个盘片执行同一程序的多项实施方案。最佳情况是装置致动,是凭借压下单独一个按钮而取得的。这种类型装置的处理器和数据处理器包括设计得可处理分析数据(化验处理器)和编码数据(数  
25  
30

据处理器)的电路和芯片器件。来自这些处理器的信息可以用来在前板或视频显示器上输出给用户并也可在内部用以确保化验的正确操作条件。这种内部信息处理可以包括, 系统诊断测试结果以确保盘片标识和测试类型适应性; 由经过扫描试剂和样品储囊的、检测器孔口的光吸收所确定的试剂和样品的存在; 在测试开始之前检测出来的污染的存在, 以及在外部检测器和致动器上的自我诊断结果。这些结果由控制器用以确定是否可以进行所要求的测试。

在装载和致动之后, 分析结果可以内存在电子存储器之内或编码在盘片上。这些分析结果和程序然后使用适当的视频驱动器被送到前板显示器(前板 LCD, 等等)。经过处理的化验数据也可以被送到包括 RS - 232、RS - 232C、IEEE - 488 在内的许多标准数字 I/O 装置以及熟悉数字 I/O 的其他装置和界面之中的某一种。同样, 经过编码的盘片数据可以被送到声频/视频显示器。原始模拟信号也可以转接到一或多个外部插口, 用于装置外储存或处理。

一项至少在技术上不复杂的装置是一种不大于轻便式声频 CD 放送器的轻便装置, 其包括盘片驱动器、控制器和选择器, 用于有限数量的过程中的可编程或预编程角加速/减速分布。这样一种装置有利于从事就地的有毒化学品/污染测试。待测试的被分析物被送至盘片, 此盘片插进放送器和所选的适当程序。分析结果储存在盘片上以便随后由一较大的放送器/阅读器来读出, 以及/或者立刻显示给用户。结果也可以在不装置进行任何其他数据收集或分析的情况下, 作为指示器的固有状态(比如, 在不同透明小容器中石蕊试纸的正/负状况)而储存起来。这些数据可以由一较大的放送器/阅读器或由在现场工作环境之外的其他装置予以存取。关于地址、时间和其他样品收集条件的信息是通过用户界面送入的。

另一实施方案是具有主动通讯能力和更大功能的独立操作式装置。这样一种装置的示范性应用是在作为一种家庭验血器。这种装置的用法是, 单独放置一滴血在盘片上、插装盘片和优选只通过压下单独一个按钮而起动化验。随后完成一或多个过程。化验数据传送到或是在盘片上或是在装置内完成必要分析的软件。此装置也可以永久地或暂时地装接于家庭电话线并自动地把原始或简化了的数据传输到在中心地点的计算机, 来分析传输来的数据、对比于合格的标准和/或来自同一病人的先前数据、得到作为病人所用装

置的部分的一份永久记录，或许数据分析和指示或所建议/所推荐行动方法(诸如与医生连系)的一种确认。

桌上外围/主机运用台构成一种如上所述的装置，其具有从和对应于主计算机、按照许多可能的数据约定之一接受指令的能力。此系统能够起到主机的作用，或者能够把数据传输到外围设备或其他形成网络的装置和工作台。5 预编程函数的远程存取、函数重新编程和实时控制能力也予以配置。

这种运用台的另一实施方案是一种中央的或床边的放送器/阅读器，具有设置得作为医院中护士工作站的相关软件。由于测试是在盘片上进行的，信息通过短程收发机用电话、传真或文件转发给医生。病人标识可以利用装接10 于装置的条码和光笔在收集样品时送入，为处理提供了确实的病人/样品标识。

此装置也可配置得具有以上能力和功能并另外具有带有集成计算机的界面，此计算机具有高分辨力制图、图像处理和其他特性。此计算机提供了装置为执行上述功能而对外围装置的控制，而物理集成则大大地提高了数据传输速度。此外，此集成系统配有广泛的分析软件和背景数据库和信息。转15 盘传送带的盘片储存盒也是这一系统的有利特点。这一类型的集成系统在大型分析实验设施中是有用的。

自配套系统用于隔绝环境中的各种应用场合。一些实例包括用在远方或恶劣地点中的装置，诸如用在极地之中当环境目的空气、水和土壤测试装置，或者为了用在战场上以便从事有毒化学品检测的装置。20

本发明所提供的微型系统平台也可用于为其他分析仪器配制样品，这些仪器比如是，质谱测定仪、气体色谱分析仪、高压液体色谱分析仪、液体色谱分析仪、毛细电泳仪、感应耦合式等离子分光仪，以及X射线吸收精细结构。在某些应用场合中，最终产物从盘片取下以供分析。

25 各种样品可以通过加入含水两相分离装置在盘片上预浓缩和加以纯化。实现这一点的办法是，比如，混合根据热动力差别彼此分离的两相，象聚乙二醇(PEG)和右旋糖酐，生物聚合物就是采用这种方法有效地分离开来的。另外，诸如比色分析这样的环境分析可以通过引用元点分离以浓缩和扩增光学信号而得到加强。小规模反电流色谱分析可以在装置上进行(见30 Foucault, 1991, Anal. Chem. 63 PAGE)。盘片上的向心力可以用来迫使不同密度的各液体流向彼此，导致各组分沿着一密度梯度的分离以产生色谱。

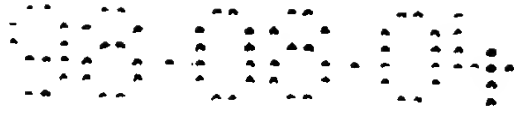
## 用途和用法

构成本发明的液体微型操作设备的微型系统平台和微型操作装置由于设计的灵活性而具有广为多样的微量合成和微量分析用途，其中液体由当平台转动时生成的向心力使之在平台上运动。随后是属于包含在本发明范围之内各类型应用场合的小的代表性样品，这一范围既不是包揽无余的，也不是  
5 本发明所有实施例的限定。

本发明用于研究特别是生物研究用途中的微量分析是很有好处的。这种微量分析包括免疫测定法和包括聚合酶链式反应、连接酶链式反应和磁性链式反应在内的体外扩增途径。分子和微生物测定法，包括 DNA 的限制酶消化作用，DNA 片段大小分离/分级也可以使用本发明的盘片予以实施。微量  
10 合成操作，诸如 DNA 片段连接、代换合成、放射性标记和荧光或抗原标记，也都可以使用本发明的盘片予以实施。核酸定序，采用利用 DNA 的酶代换合成的多种合成协定，可予以完成，而最终嵌套起来的一组单链 DNA 片段的分离和分析可能在盘片上予以分离、予以识别和使用驻留软件排列成为一个序列，而此软件是从当前可以用于宏观、自动 DNA 定序机器的这种软件  
15 修改出来的。其他一些应用场合包括 pH 测定、过滤和超滤、色谱分析 - 包括亲合色谱分析和反相色谱分析、电泳、微生物应用 - 包括病原的微生物体培养和识别、流动血细胞计数、免疫测定和其他此前常用的在宏观规模上进行的各种实验过程。

一例证性实例是免疫测定。虽然存在着许多用于检测抗原/抗体的、目前为研究和临床所用的实验方法，但最为健全的免疫测定协议包括“三明治”式测定法。在这种测定法中，固定化抗体被提供给针对该固定化抗体所特有的抗原被分析物待测试的样品。第二抗体，为同一抗原的不同抗原表位所特有，接着予以接合，造成抗原居于两结合起来的抗体之间的一个“三明治”。  
20 在这种测定法中，第二抗体联接于一可检测的部分，诸如放射性同位素示踪或荧光示踪，或者酶解或催化功能。比如，辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶用来在底物中产生色彩变化，其强度相关于接合在此三明治中的第二抗体的数量。

一种适于从事这种免疫测定的盘片实例示于图 17Q。在此实施方案中，  
30 第二抗体联接于碱性磷酸酯(AP)。AP 活性的存在与大小通过监测以下各范例性底物之一由于在比色分析方面酶的作用而造成的转变来予以确定：B -

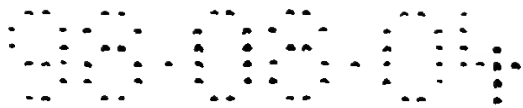


苯基磷酸酯在重氮化盐存在下转变为一种不溶的偶氮染料；5-溴基-4-氯-3-吡啶基磷酸酯在存在硫酸铜的情况下转变为5,5'-二溴基-4,4'-二氯-靛青；或者4-甲基形磷酸酯转变为4-甲基形酮，后者在950纳米处发出光线。

- 5 在一范例实施方案中，反应室包括为一抗原所特定的抗体，在此此抗体通过此抗体的吸附于反应室而使之固定。有益的是，邻近反应室安放包含第二抗体的试剂储囊，这种抗体希望是诸如碱性磷酸酯这样的酶。可包含专门由以上各抗体予以辨别的一种感兴趣的抗原的样品，在入口处予以装放。使盘片旋转以使样品首先进入包含固定化抗体的反应室，随之在一段足以使固定化抗体用抗原饱和到在样品中抗原所被提供的程度的时间以后，把第二抗体送入反应室。另外，样品可以接触第二抗体，使之相互作用，然后送入反应室。以抗体培育样品是在大约1分钟之内没有旋转的情况下进行的。在每次培育之后，来自缓冲剂储囊的冲洗剂急速进入反应室以便清除未接合的抗体。对于碱性磷酸酯测定法，2毫克/毫升邻联茴香胺在水中的溶液、1毫克/毫升B-萘基磷酸酯在50mM硼酸/50mM KCL(pHP.2)缓冲剂和100mM氯化镁之中的溶液以适当的数量发送到反应室。酶联接的、第二抗体接合的程度通过采用光二极管或CCD相机来检测紫色沉淀而予以评估。
- 10
- 15

一种为免疫测定应用而设计的盘片示于图17R用作例证。

- 在本发明的免疫测定法的另一实施方案中，本发明提供了一种手段，用于鉴别和定量各特殊细胞或细胞类型在各液体，最为可取的是在诸如血液、尿液、胎盘液、精液和乳液这样的生物液体之中的存在和数量。在本发明的这些实施方案中，微型系统平台包括盘片上的一个腔室或固体表面，其准备任选择性地接合特殊的细胞或细胞类型。在一些细胞粘附于表面之后，非特定接合的一些细胞或其他一些组分由液流(冲洗)或离心力(包括响应于盘片的向心加速度的液体内部流动)予以清除。仍然粘附于微型平台表面或腔室的感兴趣的一些细胞利用包括但不限于显微、光谱、荧光、化学发光或光散射等手段的各种手段予以检测和定量。本发明还包括用于诸如代谢监测这样的毒性监测的、粘附于特定表面的这种细胞，以确定具有生物活性的各种药物或其他一些治疗的功效。这种表面的定向排列配置在某些实施方案中以促进完全确定某些生物样品的纯度和无菌，并用于各种细胞计数和细胞计数学应用场合。
- 20
- 25
- 30

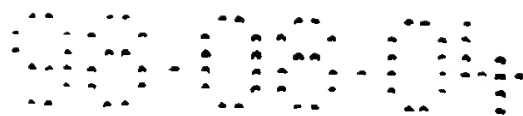


用于专门接合感兴趣的一些特殊细胞或细胞类型的盘片表面或腔室制备得可为它所提供特定的接合地点。一般，一种抗体，可取的是一种单克隆抗体，粘附于表面或腔室，其中此抗体特别适于在感兴趣的细胞或细胞类型上表现出的一种细胞表面抗原。另外，一种特别适于在感兴趣的特殊细胞或细胞类型上表现出的一种细胞表面受体的配体被用来形成特定的粘附场合。多排特别制备的表面或腔室形成在盘片的某些实施方案上。比如，通过使表面接触于一种具有适当抗体的溶液可以形成各表面和腔室。在这些制备方法的实践中，表面接触于抗体后随着表面接触于非特定的封闭蛋白，诸如牛血清白蛋白。抗体和封闭蛋白可以利用一种很好地用于此目的的、以压电作用驱动的点头(诸如用于喷墨打印应用场合之中者)使之接触于表面或腔室。另外，可以采用屏幕打印，或者使用一种气刷把抗体溶液喷在腔室或表面上。这些方法在制备 0.1 - 10 毫米尺度的表面和腔室方面是优选的。在其他各供代换的方法中，微型平板印刷和微型冲压技术可以用来制备表面或腔室。

在本发明的实践中，一种包含感兴趣的特殊细胞或细胞类型的生物或其他液体样品施用于制备好的表面或腔室并使之接触于制备好的表面或腔室一段足以允许细胞或细胞类型特定地接合于表面的时间。由于接触于表面可能受到液体容积中细胞沉积特性的阻止，所以腔室和表面优选是具有横穿微型系统平台的最小高度。

非特定细胞接合可通过使用足以清除这种非特定接合的液量来冲洗表面或腔室来予以尽量减少或予以消除。冲洗是简单地由在表面或腔室上的大量液流，或由离心作用，来完成的。

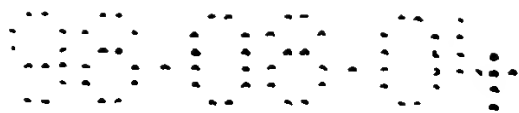
冲洗之后，依然粘附于表面或腔室的细胞予以检测和计数。在一项优选实施方案中，是用荧光显微技术来实现检测和计数的，在本发明的实践中，一些特定的染料可以用以为留在盘片上的任何活细胞提供一种荧光信号。染料可以直接加在表面或腔室上，比如采用一种诸如乙酸基甲酯染料这样的永久薄膜式染料。另外，一些特定的抗体可以联接于这些染料。染料可以添加于包括细胞的生物液体中，而后送到微型系统平台上，或者这种染料可以使之在原地接触于盘片上的细胞。细胞的存在使用一种包括光源、光源滤波器、分光滤波器或镜具、发射滤波器的荧光检测器和一种诸如光倍增管这样的检测器予以检测。



在另一实例中，薄层色谱分析在微型平台盘片上予以实施，此盘片包括一些以盘片中心辐射向外的 100 皮米的方形横截面槽道。每一槽道填有分隔基底，这种基底一般包括一种粘结材料(0.1 - 10 %)，诸如淀粉、石膏、聚丙烯酸盐类和类似材料，以提供机械强度和稳定性。(这些化合物在通常的 TLC 应用场合中的使用在 Poole 等人, 1994, Anal. Chem 66:27A 之中有所说明)。在包括分隔槽道的材料之中还包括含吸附剂，比如包含纤维素、聚酰胺、聚乙烯粉末类、氧化铝、硅藻土、硅酸镁和硅胶类。这些基底比如用各种硅烷化分子，诸如二甲基-，乙基-辛基-和 3 - aminopropyl 硅烷类，予以改进。最好是，分隔基底包含吸附剂来饱和的纤维玻璃或 PFTE 基体。

10 样品经由一靠近于盘片转动中心而设置的孔口予以装放。当疾转盘片时，则使游离相向外流过分离基底，把各样品组分以特征速率带向盘片周边。此游离相可以选自许多适当的溶剂系统，包括己烷、甲醇和二氯甲烷。具体溶剂的选择取决于盘片材料、分隔基底和有待分离的样品各组分的性质。同样，用以检测被分隔的样品各组分的各目测试剂的选择对于被分隔的各种物质来说是特定的。比如，茚三酮用于检测氨基酸类；alimony 氯化物加上高锰酸钾用于烃类；硫酸加上茴香醛用于碳水化合物；以及溴用于烯烃。分隔之后各分隔槽道的图像可使用一种 CCO 相机予以取得。一种为薄层色谱分析应用场合设计的盘片示于图 17R 用作例证。

20 使用本发明微型系统的医疗应用是繁多而又有力的。本发明的多种实施方案为快速分析血液组分、血气、药物浓度、代谢作用和感染病原体提供了家庭、床侧和医院用和便携式的设备，在各家用监测实施例中，本发明提供了一种简单易行的为消费者欢迎的装置，其需要病人添加一血滴、尿样或唾液样品于盘片上的一特定施用区域，把盘片插进装置并通过推压一按钮而启动装置。在一种医院用装置中，提供了床侧和临床化验各实施方案，其中床侧实施方案有利地以电子方式联接于设置在护理站处的中心处理器，而临床化验实施方案包括医院参考信息库，用于病人样品的快速自动诊断。本发明的各种医疗应用包括血液化验(诸如监测化疗药物处理的病人的血小板数目)；代谢物、药物和其他生物和化学物质的免疫测定；疫苗功效监测；骨髓瘤或狼疮红斑监测。糖尿病病人中血液葡萄糖和/或酮体水平的测定；自动胆固醇测试；自动血液药物浓度测定；毒理研究；在病人床侧处其他与医疗相关的血液组分的电解质监测；败血症/内毒素监测；过敏症测试；以及血栓监



测。

本发明还提供用于环境测试、工业用途和规程适从性的分析仪器。提供便携式，最好是手持式的各实施方案，以及更为广泛的各实施方案，装设起来作为一种工业品质量控制体系的一部分。本发明的这些实施方案的应用场合包括被分析物测试，特别是工业污水和废料的测试，这种测试有待用于规程适从性；以及工业的而最为有利的是人类消耗物品的质量控制，特别是各种药品和专门的内毒素测定。送于测试、混合和评估香水和其他复杂混合物的应用也在本发明的范畴之内。

本发明还提供化学反应和合成模拟，其中一种反应方案或工业生产体系可以小型化仿真予以测试和评估。本发明为廉价地形成有潜力的研究、医疗和工业的各种化学反应方案的原型创造了条件，在使用本发明的微型系统平台作了分析和优化之后，这些研究和方案都可以按比例扩大到宏观水平。

多种这样的应用可以提供出来，包括多种微型合成方法和各种法医应用场合。

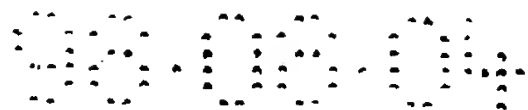
以下各实施旨在进一步表明本发明的某些优选实施例，在本质上它们并非是限定性的。

### 实施例 1

#### 用于化学分析、合成和各种场合的

#### 微型平台盘片的制作

本发明的微型平台盘片是由热塑性塑料制成的，诸如其中包括特氟隆、聚乙烯、聚丙烯、甲基丙烯酸甲酯类和聚碳酸酯类，由于它们易于模制，冲压和铣制。另外，盘片可以由硅、玻璃、石英或惰性金属制成。流体处理系统是以逐步方式通过陆续施加铺放在热塑性塑料上的一种或多种这些材料而形成的。图 17A 至 17E 是一种适于从事 DNA 定序的盘片的示意图。本发明的盘片是用一种注塑模制的具有光学凹点的光学透明基层制作而成的，方式如同通常的音响光盘(CD)。盘片是圆形聚碳酸酯盘片，直径为 120 毫米和厚度为 100 微米。光学凹点提供了用于编码为应用场合和驱动器结构所特定的仪器控制程序、用户界面信息、图形和声音的手段。驱动器结构取决于微型操作装置是否是手持的、半敞开式的或落地式的，而且还取决于外部通讯的详情和硬件结构的其他细节。此层随后用一反射表面覆盖，留有一些在盘片上透明的适当窗口用于各外部检测器，具体地说，各光学检测器。



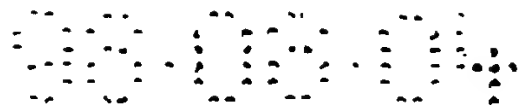
其他各层具有变动厚度的聚碳酸酯以槽道、储囊、反应室和其他构造的形式铺放在盘片上，包括在盘片上配置各阀门和其他各控制元件。这些层可以是预先制作和切割而成的，具有适当的几何尺寸用于某一给定的应用场合并组装在盘片上。包括不同于聚碳酸酯的材料的各层也可以引入盘片。盘片上各层的组成主要取决于特定的应用场合和待与盘片一起作用的、各试剂的化学兼容性的各种需求。各电气层可以引入需要各种电路的盘片，诸如电泳应用场合和电控阀门。各控制装置，诸如各阀门、集成电路、激光二极管、光二极管和电阻网络，它们可以构成选择性的各加热区域，或灵活逻辑构造可以装入适当地接好线的各凹槽，或是直接制作成模块装设在盘片上。可干式储放的各试剂可以通过使用类似于喷墨头的装置喷进各储囊而送入适当的各敞开腔室，然后干燥在盘片上。包括各进出孔口和气孔、口或眼的顶层然后予以施加。各液态试剂然后注入各适当的储囊，接着施加包括塑料薄膜的防护覆盖层。

多种多样的其他盘片结构阐明在图 17F 至 17P 之中，适用于图形代号中所说明的各种具体应用场合。

## 实施例 2

### 血液组分测定

血液组分可以通过血球比容分析予以测定，使用一种如实施例 1 中所述制备而成的分析用微型平台盘片，此盘片装在包括微型槽道层的装置之内，此层具有许多如图 18 所示的微型槽道。微型槽道层厚度是 100 微米并用肝素处理过以防止在化验期间的凝结。待分析的血样通过毛细作用吸进垂直于转动方向的槽道，如图 18 所示；许多这种槽可以沿径向配置在盘片上。当所有待测试的样品已经吸收进各槽道时，盘片以 8000 至 10000 每分转数的速度疾转以实现红血球在槽道内的沉淀。当离心作用进行某一适当的时间(3 至 5 分钟)，每一样品的血球比容使用上述装置中的常规 CD 激光系统通过每一槽道的频闪询问同时予以确定。当激光通过各红血球的边界时，由光二极管检测器检测出来的光线散射图型方面的变化，根据诸存在装置内部处理器和存储器之中的一组标准化的光线散射/血球比容信息，被转换成为血球比容值。另外，原始信息经由红外孔口或硬接线界面被转送到微处理器用于分析。这样一个中心微处理器是就地的或者另外在一集中地点处，诸如医院或医疗中心中的护理站，此站用电话或其他专用的连系装置连接于血球比容测

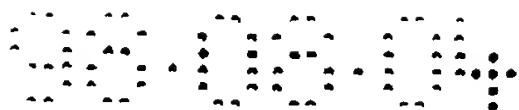


定装置。血球比容可以由未受培训的个人(包括病人),简单地应用由刺血针往盘片上得到的一滴血液,接着再简单地应用此装置和自动血球比容分析及数据处理而就地予以测定,或者在通过传送给经过培训的医务人员的中心地点之后予以测定。本发明的这一实施方案为具有红细胞增生症(诸如白血  
5 病、淋巴瘤、骨髓瘤和贫血症)病人提供了长期监测。

此外,血气可以测定,使用以上装置再结合一种盘片,这一盘片具有埋置在血球比容槽道之内的各集成电极或具有致力在血球比容盘片上从事血气测定的单独的槽。血液氧化( $PO_2$ )借助由薄片 Cr - Au 阴极和棒状 Ag - AgCl 阳极组成的 Clark 型电极予以测定。血液中的二氧化碳含量借助使用  
10 ISFET(一种场效应晶体管)作为 pH 监测器的 Severing 型电极予以测定。血液 pH 值利用  $Si_3N_4$  栅 ISFET 予以测定,后者具有由液态连结和棒状 Ag - AgCl 电极组成的标准电极。这些使用血球比容盘片或此盘片的其他变型用来有效地从事测定血气、电解质浓度和其他信息的分析方法的其他实例被描述为 Shoji & Esashi 的宏观规模各方法的改型(1992, Sensors and Actuators B 8:  
15 205)。

血液分析也可使用 Bor Fuh 等人(1995, Biotechnol.Prog.11:14 - 20)所述的分流薄细胞(SPLITT)分级法予以实现。为 SPLITT 分析法设计的一种盘片的示意图示于图 19。这一过程可以生成蛋白和脂蛋白、血小板、红血球、淋巴血球、单核血血球和嗜中性血血球的富含级分。一种非连续圆形槽道蚀刻  
20 在盘片上,在任一端处装有一薄壁(图 19),即入口分流器。样品和载体液流在另一端两侧处被引入,而腔室在一定方向上疾转,在疾转的腔室里面,基于流体动力作用力、入口分流(ISP)和出口分流(OSP)而构成两个各别的分解平面。ISP 可以通过调整样品对载体液流的比例而加以调节。根据样品输入的方法,可能有两种各别的分离模式,即平衡和传输两种模式。

25 在平衡模式中,分离基于各组分相对地于所施加的离心力域的平衡:调节出口流量比可优先分离。然后可以从出口分流器的任何一侧收集浓化的级分。在传输模式中,各组分作为 ISP 以上的一个薄层而被引入。根据沉淀系数方面的差别,具有较高传输率的组分选择性地引入到在各孔眼处的出口阀门的对置两侧。在此文件的别的地方说明了各种可变流量阀门。在另一实施  
30 方案中,每一 SPLITT 腔室可以专用于它所需要的分离类型,ISP 或者 OSP,以及由各固定式流量限制孔眼予以调整流量。



为了把血液完全分级成为以上确定出的各级分，要作出 5 种分离，各产生两个级分。用于这类分级的本发明微型系统盘片的一项实施方案示于图 19。5 个同心的 SPLITT 环槽示于图中，标为 C1(靠近转动中心)至 C5(朝向周边)。把血样加入 C1 并通过以适当速度转动的盘片使之接受一种传输模式分离。血小板和蛋白(级分 1)被分级而朝向转动中心，而血液细胞(级分 2)移向周边。通过开启和关闭盘片上适当设置的各阀门，级分 1 被引向 C2 的入口，而级分 2 被引向 C3。各级分然后分别接受传输和平衡模式分离。采用这些技术，级分导致血小板趋向转动中心，蛋白趋向周边。级分 2 产生由淋巴血球和单核血球组成的级分 3 和 4 趋向转动中心、红血球和嗜中性的血球趋向转动中心，以及单核的血球趋向周边。级分 4 产生嗜中性的血球趋向转动中心，红血球趋向周边。因而，实现了血液分级成为 5 种分离开的组分。

蛋白级分中酶的活性可以使用固定性酶来予以测定(Heineman, 1993, App. Biochem. Biotech. 41:87 - 97)。比如，血液特有酶(诸如葡萄糖氧化酶，碱性磷酸酶和乳酸盐氧化酶)可以在聚乙烯醇(PVAL)中使之稳定。乳酸盐氧化酶可以通过在两层 PVAL 中间夹置一薄层酶而被固定在镀铂石墨电极上。传感器可由于过氧化氢的电化学氧化对回应于乳酸盐，该过氧化氢是由于扩散到网络中的乳酸盐的酶催化氧化而生成的。所产生的电流正比于过氧化物的浓度，它本身又下正比于乳酸盐的浓度。这一传感器已经证明对于范围从 1.7 到 26 微摩尔的乳酸盐浓度是很敏感的。

一旦分离，每级分由检测系统予以询访以确定各级分的相对组分。另外，每一级分可以通过出口从盘片上排掉用于装置外的进一步研究。比如，每一级分可以接受简单的计数，方式是，使各细胞在稀薄蒸汽中通过两个包括电阻监测器的电极。随着细胞通过两个电极，监测并计数电阻方面的相应升高。这些数据然后相对于标准的一组按照尺寸分布的颗粒予以集分以测定在原始样品中的每一细胞类型的相对数量。

各级分可以接受每一细胞类型特定的荧光抗体着色。各细胞由一些经过微型机加工而成的、与各槽道形成一体的过滤器固定就位(美国专利第 5304487 号)，在盘片上予以着色和冲洗。这些最终得到的带标细胞然后可以作为与这些细胞相关荧光着色程度的函数而予以定量。

### 实施例 3

## DNA 大小测定和变异检测

在某一特定地点处的 DNA 筛分和 DNA 中特殊变异的检测可以使用一种按照实施例 1 制备并示于图 20 的盘片、采用双链解链分析予以进行。一种 DNA 解链计(如共同拥有和共同待决的美国专利系列编号 08/218030 中所  
5 述,此专利于 1994 年 3 月 24 日提出并在此完全引入作为参考)很有助益地纳入盘片实施例 1 的结构之中。DNA 解链计技术利用以下事实,即一种 DNA 变体的变性点取决于长度、基本组成和变体中两链的互补程度。变性点可以相对于分子的某一物理状态(诸如温度或一种诸如尿素和甲酰胺这样的变性化学品的浓度)和一组所采用标准条件、从中导出的信息可以储存在装置的  
10 微处理器和/或存储器之中 - 来予以确定。为了定出任何特定 DNA 变体的大小,一链通过将其固定于链霉亲和素涂敷过的磁珠而使之稳定。此磁珠由一用机械加工方法制在槽道中的过滤器予以保持(见美国专利 5304487)。另外,此磁珠可以是顺磁性磁珠,利用采用设置在槽道附近、装入盘片的永久磁铁的磁场被保持在槽道之中。可以采用电磁铁。此电磁铁可以直接装入盘片并  
15 利用 500 毫安时 0.8 伏 DC 予以驱动。另一链作出标记,一般使用荧光染料或放射性同位素。另外, DNA 分子本身的特殊光学性质(亦即增色性)可使用未作标记的 DNA 通过监测在 260 纳米时的吸收率而予以检测。虽然本方法的这一方面要求一种更精密的装置以生成并检测紫外光线, DNA 的用户制备工作降至最低限度,而且每一样品的 DNA 制备成本大为降低。在本发明  
20 此方法的实践中,固定化的带标记的双链体置放在盘片上并承受盘片上盛放的缓冲过的溶液的液流。在液流展开期间, DNA 还由于逐渐添加变性剂于 DNA 而经受产生在液流中的受控变性梯度。在有效半径 3.5 英寸和转速 600 转/分的情况下,在一直径 100 微米的槽道中可以生成 10 微升/分的流率。四个各自容放 300 微升的缓冲储囊可以装入盘片的每一象限之中(从一半径为  
25 25 毫米至 50 毫米处的位置上伸展 800 微米深)。在 10 微升/分时,这将允许 30 分钟的解链斜升。某一双链体溶解在此梯度中的某一变性剂特征性浓度之下,并可以对比于一些标准而予以识别,这些标准的变性剂分布信息储存在装置的微处理器和/或存储器之中。通过在解链室下游的询访来检测变性现象,使用的是适当的检测装置(用于紫外吸收或荧光检测的光电装置,或者用于作出放射性同位素标记的 DNA 链(Stands)的放射性同位素检测器(Geiger - Muller 计数器))。  
30

本发明盘片和装置在这方面应用的示例是由聚合酶链式反应或磁性连反应所产生的 DNA 片断的检测、识别和大小测定(后者阐述在美国系列编号 08/375226 之中, 此专利是 1995 年 1 月 19 日提交的, 它是 1993 年 6 月 9 日提出的 USSN/08/074345 和 1994 年 12 月 8 日提出的 USSN 08/353573 的文件的继续部分, 各自全文引入作为参考)。增生处理是使用一种用诸如荧光染料或放射性同位素这样的可检测标记予以标记的引物来完成的, 而另一种引物共价地连接于允许此引物固定的分子(比如, 生物素)。增生之后(或是在盘片以外或是在盘片上, 如以下实施例 4 中所详述), 此经过标记的、生物素化的双链 DNA 产物片断连接于涂以链霉亲和素的一种固态载体, 比如, 通过把增生反应混合物移入其中壁部涂以链霉亲和素的、盘片上的一槽道或隔间, 或者通过把增生混合物移入盘片上的包含一种诸如 Dynal M - 280 动态磁珠 (Dynabeads) 的结合基体(binding matrix)的隔间中(动态磁珠)是涂以直径为 2.8 微米顺磁性颗粒的聚苯乙烯)。标准化的大小显示器包含在后扩增隔间之内, 以便提供一组基准 DNA 片断用于对比扩增产物片断。在此分析中, 来自一种多重扩增反应或是许多分别的扩增反应的大量不同的双链体 DNA 分子可以同时定出大小, 每一片断或一组片断均可利用反应或片断特有的可检测标记, 或者片断的其他物理性质方面的差别, 从其他各个或各组中分辨出来。对于盘片外从事的扩增处理, 粘附于片断的各磁珠装放到盘片上能够保持这些磁珠(诸如尺寸排除、“光学捏钳”或通过磁力吸引)的槽道之中。在最后一实施方案中, 磁力阻挡装置(永久磁铁或电磁铁)或是与盘片形成一体, 保持在与第一盘片同步疾转的第二盘片上, 或是置放在装置上, 以便使 DNA 片断固定在适当隔间之中。

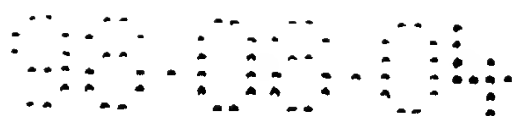
DNA 大小分析也基本上如上所述地予以进行, 借以使受阻的颗粒经受热力变性梯度。对于用以使被结合的 DNA 片断变性的热力梯度, 一 Peltier 热泵、直接激光加热或电阻元件被用以通过逐渐增添热能来提高整个变性范围的结合隔间的温度。如上所述, 可以在直径为 100 微米的一槽道中可生成 10 微升/分的流率, 允许 30 分钟的解链斜升(melting ramp)。隔间也经受如上所述的液流以洗脱来自结合/解链室的经过变性的、带有标记的链(stands)。在结合/解链腔室的下游是适当的用于检测 DNA 变性现象的装置, 诸如染料标记以共振频率的激光照射和光二极管检测。原始吸收率的强度和相应温度, 或其他信号, 由微处理器予以集成, 而每一 DNA 片断的大小可通过对比于

储存在装置的微处理器和/或存储器之中的内部DNA大小显示控制器和DNA解链分布图和特征予以确定。

DNA 变异也可借助解链计分析予以检测。待测试的 DNA 片断(包括扩增衍生的(amplification-derived)片断和限制酶消化或无性繁殖出来的片断是用感兴趣的基因或基因片断的一个结合成的标准(一般是野生型)拷贝予以制备和杂交的。杂交或是在盘片上或是使用通常的 DNA 杂交方法(Hames & Higgs ; Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach, Richwood & Hames, eds., IRL Press: Oxford, 1985)予以完成。杂交后的片断的洗脱取决于两类 DNA 链(即野生型和变异型)之间的互补程度。杂交分析使用野生型 DNA 予以实现, 此野生型 DNA 制备得其中一链共价连接于一种使之可能固定的分子。非共价地连接的一个链然后在大大高于双链体的  $T_m$  的温度下(一般, DNA 加热到 90 °C, 或在诸如甲酰胺这样的变性剂存在的情况下加热到较低的温度)通过冲洗予以洗脱。洗脱受到监测以确定可以提供用于进一步杂交的、已结合的单链产物的浓度, 一般, 洗脱出来的 DNA 数量比如通过紫外光吸收率予以监测, 而当不再有 DNA 可以洗脱时, 已结合的 DNA 被认为是完全单链的。野生型 DNA 制备得从而只有构成双链体的一个链共价地连接于固定分子, 以便要求只是对一个链(互补的一个链)有待测试的变异型 DNA 作出可检测的标记工作。另外, 两个链都可以共价地予以连接, 从而要求两上变异型链都要可检测地作出标记。即使在只有一个野生型链共价地连接于固定分子后作出变异型片断的双重标记的优点是, 非互补链的变性和洗脱可在杂交期间予以监测, 而野生型 DNA 的变异型的非规范结合/杂交可予以检测。

在杂交完成之后, 各链的互补程度由改进的上述热力或化学变性的方法予以测定。双链体解链的最终型式的分析按以下方式进行, 即对比于一种错配的 DNA 双链体解链型式, 此型式或是同时或是在实验分析之前予以制备并采用标准的或予期的单一基准或多项错配储存在装置微处理器和/或存储器之中。这种对比可为针对多种特征化的与疾病相关的基因多态性所作的个体快速筛分测定的基础。

DNA 变异也可借助解链计分析予以检测。在此实施方案中, 测试用的 DNA 被固定在盘片上并以一组经过特征化的探针进行杂交/变性分析。采用这种方法, DNA 片断最好是使用体外扩增技术予以制备, 以致由于结合分



子共价地连接于引物之一而固定一个链。采用这种方法，待测试的 DNA 片断陆续地予以杂交并通过从一系列良好特征化的、可检测地作出标记的 DAN 中变性予以洗脱。另外(取决于每一探针期望的 DNA 错配特性)，杂交和变性采用以不同的各可检测标记可检测作出标记的各探针使之多重，以致每一探  
5 针都可予以识别。此方法可以用于如上所述的基因筛分。

#### 实施例 4

##### DNA 扩增和分析

DNA 片断在体外通过聚合酶链式反应(PCR)或磁性链式反应予以扩增并通过毛细电泳予以分析。造成 500bp 靶片断的扩增的、扩增循环中试剂混合、  
10 引物退火、延伸和变性，以及此片断后续的分析，利用以上在实施例 1 中所说明的一种装置和盘片予以实现。此盘片结构的示意简图示于图 21。

此盘片包括至少三个样品入口 A、B 和 C。入口 A 允许注入 30 阿摩尔(大约 100 皮克)的线性噬菌体  $\lambda$  DNA。入口 B 和 C 分别允许输入引物 1 和 2 的 5 微升和 20 微摩尔溶液，具有以下序列：

15 引物 1: 5' - GATGAGTTCGTCCGTACAACTGG - 3'(序列识别编号 1) 以及

引物 5' - GGTTATCGAAATCAGCCACAGCGCC - 3'(序列识别编号 2)

此盘片还包括三个在图中为 D、E 和 F 的试样储囊，分别包含 54 微升的蒸馏水，10 微升的 100 毫摩尔 Tris - HCL(pH8.3)、500 毫摩尔 KCL、15  
20 毫摩尔  $MgCl_2$ 、0.1 % 明胶和 1.25 微摩尔每一 dNAP 的溶液，以及浓度为 5 单位/微升的 1 微升 Taq DNA 聚合酶。

此外，此盘片包括反应室 G，设计得可利用挠性平板波(flexural - plate - wave)部件促进试剂的混合(如美国专利第 5006749 所述)。在反应室 G 的结构中还包括经由 Peltier 部件的冷却和加热装置。这些部件可以与盘片形成  
25 一体，或者设置在装置之中，以便专门为反应室提供加热和冷却。还提供了包括许多组反应部件 A 到 G 的一些盘片。

扩增处理是从把样品 DNA 和引物送入每组孔口 A、B 和 C 开始的。当所有的样口和引物都已经送入孔口时，盘片以 1 至 30000 转/分的速度疾转以实现各试剂之混合而进入各反应室 G。同时，由阀门控制的储囊 D、E 和 F  
30 被打开而三个储囊的内含物也被迫进入反应室 G。启动挠性平板波部件以促进样品 DNA、各引物和各试剂的混合。DNA 扩增采用以下的热循环程序在

反应室中进行。反应混合物最初加热到 95 ℃，持续 3 分钟。此后，扩增循环包括的各步骤是：步骤 1，在 95 ℃ 下培育 1 分钟；步骤 2，冷却腔室至 37 ℃，持续一分钟；以及步骤 3，加热腔室至 72 ℃，持续 3 分钟。这一扩增循环重复总共 20 次，反应在 72 ℃ 下保温 5 分钟予以完成。

- 5 经过扩增的 DNA 片断通过以 1 至 30000 转/分的速度疾转盘片并打开通向毛细电泳装置 H 的反应室 G 上的阀门而传向毛细电泳装置 H，以致实现一定数量的反应混合物被传向电泳装置这样的方式来予以分析。反应混合物的数量，一般是 10 微升，由反应室 G 上阀门打开的时间长短和盘片以之转动的速度大小共同决定。毛细电泳分析如以下实施例 11 中所述那样予以完成，而经过分级的 DNA 种利用如以上实例 2 中所述那样的光学或其他装置予以检测。本方法提供了一种统一的扩增和分析装置，很有助益地用于在有限样品的各项条件下在一样品中进行 PCR 和其他各种扩增反应。

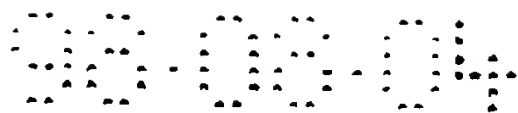
#### 实施例 5

#### DNA 酶切和消化与分析

- 15 限制酶消化和酶切片断分析采用如以上实施例 1 所述那样的一种盘片和装置予以进行。双链 DNA 片断用限制内切核酸酶予以消化并接着用毛细电泳法予以分析。试剂混合、DNA 消化和酶切片断分析是在盘片上进行的。盘片结构的示意简图示于图 22。

- 20 此盘片包括样品入口 A；三个试剂储囊 B、C 和 D；反应室 E，设计得用于如以上实施例 5 那样混合各试剂；以及毛细电泳装置 F。各试剂储囊装有：在储囊 B 中，1 - 2 微升的浓度为 20 单位/微升的一种限制性酶，比如 HindIII；在储囊 C 中，4 微升的一种 100 毫摩尔 Tris - HCl(pH7.9)、100 毫摩尔 MgCl<sub>2</sub> 和 10 毫摩尔二硫苏糖醇的溶液；以及在储囊 D 中，30 微升的蒸馏水。还提供了包括许多组反应部件 A 到 E 的盘片。

- 25 DNA 的限制酶消化是由在样品入口 A 中放置 4 - 5 微升的一种包含 4 微克噬菌体 λ DNA 的溶液(一般，100 毫摩尔 Tris - HCl、1 毫摩尔 EDTA，pH8)而开始的。DNA 样品和储囊 B、C 和 D 之中的各试剂通过以 1 至 30000 转/分的转速疾转盘片和打开控制储囊 B、C 和 D 的各阀门被传向反应室 E。在反应室中，反应要在 37 ℃ 下培育一小时，此前，要搅混，在盘片上或是在装置之中配备了专门加热反应室的 Peltier 加热元件而加热反应室。消化之后，一定数量的经过消化的 DNA 通过以 1 至 30000 转/分的速度疾转盘片
- 30



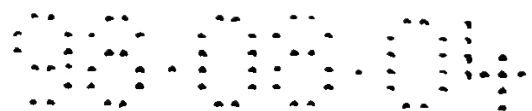
和打开通向毛细电泳装置F的、反应室E上的一个阀门而被传向电泳装置F，从而实现一定数量的反应混合物向电泳装置的传送。反应混合物的数量，一般是10微升，由反应室E上阀门打开的时间长短和盘片转动的速度大小共同决定。毛细电泳分析如以下实施例11中所述那样予以实施，而经过分级的DNA种如以上实施例2中所述那样利用光学或其他装置予以检测。

### 实施例6

#### DNA合成

使寡核甙酸DNA合成如以上实施例1中所述那样予以进行。合成是由通过一系列装有为亚磷酰胺酯DNA合成所必需的各试剂的各反应室逐步传输多孔玻璃(CPG)而予以实现的。各试剂和CPG通过使各反应室彼此连接和连接于各试剂储囊的各单一用途阀门被陆续送到各反应室。每一盘片具有许多合成反应室以生成寡核苷酸，其长度类似于由市场上有售的DNA合成仪器(亦即100 - 150碱基)生成的寡核苷酸长度。此盘片结构的示意简图示于图23A。

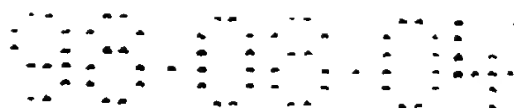
带有序列第一碱基的CPG(以此形成3'端延伸核甙酸)是由用户或是由自动器具装放到样品入口A之中。此CPG然后通过以1至30000转/分的速度疾转盘片被传送到装有乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ )中三氯乙酸的反应室。核甙酸的脱三苯甲基化在室温下进行确定的时段，一般是1分钟。试剂随后通过打开的阀门而从第一反应室滗去，此阀门具有一孔口，小到不允许CPG通过但足以把包含TCA的混合物泄放到一滗析室里面。由于通过脱三苯甲基处理脱除碱基保护要产生一种带色产物(桔红)，其强度是反应程度的一种量度，所以配置了用于确定待记录在装置微处理器/存储器上的流出物吸收率的光学装置。在滗析反应混合物之后，CPG被甩进包含 $\text{CH}_3\text{CN}$ 的漂洗室，此室中供选择地包括如上述所述的混合装置。在漂洗之后， $\text{CH}_3\text{CN}$ 被滗入由以上尺寸选择的阀门予以控制的流出物储囊，而CPG被甩进第二反应室。在第二反应室中，一种包含对应于在寡核甙酸链中下一位置的、四个亚磷酰胺酯碱基(G、A、T或C)之一的溶液与CPG相混合。在第二反应室中的反应混合物被混合和允许反应一个确定的时段，一般是3分钟。反应混合物然后被滗析如上，而CPG被甩进包含 $\text{CH}_3\text{CN}$ 和混合装置的漂洗室，在漂洗之后， $\text{CH}_3\text{CN}$ 被滗入流出物储囊，而CPH被甩进包含碘、水、吡啶和四氢呋喃的氧化混合物的第三反应室，在此，反应混合物被温养一个确定的时段，一般是1分钟。反应



混合物被流入流出物储囊，而 CPG 被甩进包含  $\text{CH}_3\text{CN}$  的漂洗室。在漂洗之后， $\text{CH}_3\text{CN}$  被流入流出物储囊，而 CPG 连同一种两组分“封闭”试剂一起被甩进第四反应室。封闭反应实施一个确定的时段，一般是 1 分钟。在此反应完成之后，反应混合物被流入如上流出物储囊，而 CPG 被甩进包含  $\text{CH}_3\text{CN}$  的漂洗室。 $\text{CH}_3\text{CN}$  然后被流入流出物储囊，而 CPG 被甩进包含 TCA 的第五反应室，构成另一循环的开始。此循环通过转送 CPG 经过一系列相互连接的四个反应室而予以重复，直至予经编程的序列完全予以合成为止。CPG 然后被甩进包含浓氢氧化铵的反应室并在  $60^\circ\text{C}$  下加热一个确定的时段，一般是 6 小时，在这段时间期间，DNA 分子从 CPG 载体上脱保护和分开。成品的寡核武酸由用户或由自动器具取出。

此盘片提供一系列反应室，彼此联接并包括附加于寡核武酸链的每核武酸有四个反应和漂洗室。盘片可予以装加以生成一种特定的寡核武酸，或者每一反应室 2 可以接触于包含每一个四种核武酸碱基并由单独控制的阀门联接于反应室的各试剂储囊。在此实施方案中，在循环在每一步骤上启动适当的阀门是由来自装置的信号予以控制。具有许多这些允许同时合成许多寡核武酸的合成阵列的盘片也予以提供。一种为多个核武酸合成而设计的盘片示意简图示于图 23B。

DNA 合成还可以依据包含在趋向盘片周边的各反应室之中的予以装放的 CPG 和利用各多用途两向阀门发送的各试剂予以实施，如图 23 中示意简图所示。在这些盘片中，可以做出一些能够盛放 100 纳升的反应室，在一直径为 120 毫米的盘片中中心对中心间隔开 150 微米(从小球的中心量至下一小球的中心)，这些反应室多达 1250 个。包含足够的容积以供应盘片上各试剂室的各试剂储囊予先充以四种亚磷酰胺、 $\text{CH}_3\text{CN}$ 、TCA、氧化剂和各封闭试剂。直接结合于各反应室的带三苯甲基的 CPG 或各种联接剂同样地予先装放在盘片上。几微升容积的各试剂足以为每一反应所用。TCA 被甩进每一第一反应室并被允许反应一确定的时段，一般是一分钟，然后被甩向盘片周边上的流出物(废物)室。 $\text{CH}_3\text{CH}$  漂洗剂被甩进每一反应室，而后甩向废物室。通过启动选择性阀门，A、C、G 或 T 亚磷酰胺被甩向需要这种碱基的各反应室，并使之反应一个确定的时段，一般是 3 分钟，而后被甩向废物室。 $\text{CH}_3\text{CN}$  漂洗剂被甩向每一反应室，而后甩向废物室。氧化剂混合物被甩进每一反应室，使之反应一个确定的时段，一般是一分钟，而后甩向废



物室。另一  $\text{CH}_3\text{CN}$  漂洗剂被甩向每一反应室，而后甩向废物室。两组分封闭试剂被甩向每一反应室并使之反应一个确定的时段，一般是一分钟，然后甩向废物室。对于每一循环，最后的  $\text{CH}_3\text{CN}$  漂洗剂随后被甩向每一反应室，而后甩向废物室。此循环重复达到一预先编程的循环次数，直至每一寡核武酸完全予以合成为止。浓缩的氢氧化铵然后被甩向每一反应室并使之反应一个确定的时段，一般是 6 小时，并使之在  $60^\circ\text{C}$  下反应以便从其载体上脱保护和分开完成的 DNA。DNA 随后可用手动或自动器具取出。相反，寡核武酸对 CPG 载体的连接选择得可以抗氢氧化铵的作用，以致脱保护的寡核武酸留在结合于 CPG 的各反应室中。

10 肽合成盘片也予以提供，从而如上所述的各试剂储囊和各反应室的配置适合于包括肽合成体系的各种合成反应。

#### 实施例 7

#### 酶 DNA 定序

DNA 片断的核武酸顺序借助于采用一种如以上实施例 1 中所述那样制备的盘片(见图 24)的桑格酶定序方法予以测定。模板 DNA(250 毫升中 200 皮克)和飞母托摩尔的一种适当引物用手工或自动方法用滴管滴进样品入口。此 DNA 随后通过以 1 至 30000 转/分疾转盘片被传送到包含终止剂溶液(亦即一种包括双脱氧形式核武酸 G、A、T 或 C 的溶液)的混合室里面。终止剂溶液一般包括 100 纳升的一种溶液，此溶液含有 5 皮摩尔的每种脱氧核武酸、0.5 皮摩尔的一种共价地联接于荧光标记的双脱氧核武酸、90 毫摩尔 Tris - HCl - (pH7.5)、45 毫摩尔  $\text{MgCl}_2$  和 110 毫摩尔 NaCl。混合室的各内含物通过以 1 至 3000 转/分的转速疾转盘片而被传送到反应室里面，此室含有 0.1 单位的 T7 DNA 聚合酶(或者，另外，0.1 单位的 Tag 聚合酶)和 20 纳升 0.1 摩尔二硫苏糖醇(DTT)，从而在此反应室中生成具有最终缓冲剂组分浓度的反应混合物，该缓冲剂组份为 26 毫摩尔 Tris - HCl(pH7.5)、13 毫摩尔  $\text{MgCl}_2$ 、32 毫摩尔 NaCl 和 6 毫摩尔 DTT。此反应室被加热到  $37^\circ\text{C}$ (或者，另外，对于  $T_{aq}$  聚合酶加热到  $65^\circ\text{C}$ )，使用的是与盘片形成一体的或者另外设置在装置之内以专门加热反应室的电阻元件，而后培育一个确定的时段，一般是一分钟。一些反应产物被甩进一种等容积的 90 % 甲酰胺/EDTA，被加热到  $90^\circ\text{C}$  持续一分钟并甩进盘片上的一毛细电泳装置。包括反应混合物的一组双脱氧核武酸封端的 DNA 片断然后通过毛细电泳予以分离，而这些片

断的序列通过如上所述的激光激发的荧光检测予以测定。包括许多这些合成阵列的盘片，允许同时合成许多双脱氧核糖酸封端的寡核糖酸，也予以提供。推演出来的核糖酸序列要依据所检测的荧光信号型式和装置微处理器从这些数据中导出的序列来予以确定。

5

### 实施例 8

#### 液相合成和分析

许多比色化学分析是利用一种如实施例 1 中所述的盘片予以实现的。比如，提供了一种盘片(见图 25)，用于利用一种标准的比色试验来从事溶液化验以确定在测试溶液(诸如一种工业污水)之中的铁浓度。此装置制作得其试剂储囊包含 40 微升的 12NHCl、100 微升的 100 % 盐酸羟胺、100 微升的 10 % 柠檬酸钠缓冲剂(中 pH4)和 50 微升的 0.02 % 1,10 - 菲咯啉。试剂储囊配置得如图 25 所示，以致这些试剂通过打开控制每一试剂储囊的流动的各阀门而被陆续地添加于反应室。试剂向反应室的传送是通过以 1 至 30000 转/分的转速疾转实施例 1 的盘片而实现的，此时向心力把每一试剂溶液从其储囊驱动到反应室。如图 25 所示，样品通过样品孔口(A)被送入并依靠向心作用被发送到反应室。通向含 HCl 的试剂储囊(B)的阀门被打开而把酸添加于样品。样品被培育 10 分钟以溶解所有存在的氧化铁。盐酸羟胺(储囊 D)和柠檬酸盐(储囊 E)接着被添加于反应混合物。此反应混合物被培育 20 分钟以确保铁 III 完全还原为铁 II。接着，1,10 - 菲咯啉从储囊 F 传送出以络合铁 II 并形成一种带色的产物。此溶液在 30 °C 下被培育 30 分钟以完成色彩发育。在一通过阀门 G 连接于反应室的“读出”囊室(G)之中在培育处理之后，以 520 纳米完成光度测量。

15

20

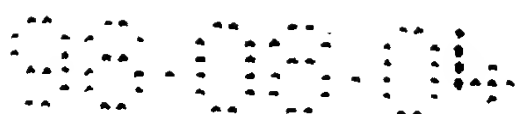
### 实施例 9

#### 固相(表面/胶体)合成/分析

寡核糖酸、单链 DNA 和双链体 DNA 利用如实施例 1 中所述并亦于图 26 的盘片共价地联接于反应性颗粒(诸如磁珠或磁粒或色谱分析基体)。在图示实施方案中，25 微升等分的羧基活化的磁粒(BiaMag 4125, Perseptive Diagnostics, Framingham, MA)通过样品送入口添加于盘片。这些颗粒依靠通过一阀门把初始溶液滗析到流出物或废物储囊而从初始溶液被交换成为 50 微升的 0.1 摩尔咪唑(pH6)，根据这一点此阀门设计得可以防止从反应室失去磁粒。咪唑溶液随后从盘片上的咪唑储囊添加给颗粒反应室，咪唑的传送由

25

30



5 阀门控制。用于既透析初始磁粒溶液又从咪唑储囊传送咪唑给颗粒反应室的动力是靠以 1 至 30000 转/分的转速疾盘片而形成的。具体地参照图 26，随着盘片疾转，密度大的磁粒在反应室端部处的漏斗之中被制成丸状并被沉淀为废物。控制包含 50 微升的 0.1 摩尔咪唑的咪唑反应室的阀门，然后在颗粒  
10 上方但在透析高度以下打开并通过反应室中的阀门传送颗粒而进入下一透析储囊。这一透析过程可以重复许多次以使液态中向所需组成变化。一般，三次交换就足够了。另外，试剂和反应室的适当构形允许磁粒通过受控地从各组试剂储囊添加和取出咪唑而在单独一个反应室之内予以交换，或者另外，一个单独的大到足以容纳用于整个交换循环的充足咪唑的试剂储囊也可以。

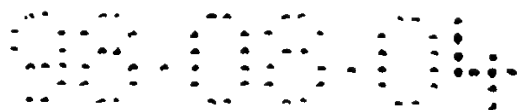
在交换循环完成之后，磁粒被传送到下一个包含 250 微克的干燥 1 - 乙基 - 3(3 - 二甲基氨基丙基)碳二酰亚胺(EDAC)的反应室。包含 170OD(120 纳克)5'-胺化的 DNA 寡核甙酸的试剂储囊在添加颗粒之前置于 50 微升的 0.1 摩尔咪唑溶液室之中以便溶解 EDAC。颗粒然后通过一阀门添加在大约 100 微升 0.1 摩尔咪唑之中。当磁粒加入反应室时，装置停下来并在 40 °C 下培育 6 小时。可以由热源(诸如 Peltier 加热器)实现加热，此热源埋置在盘片本身之中，或者以允许专门加热反应室的结构设置在仪器之中。在后一方案中，盘片可以停止在相对于装置的一个预定位置处以确保专门加热反应室。

20 在培育之后，颗粒在盘片疾转时通过如上所述的透析被冲洗并交换入 100 微升部分的水中。一般进行三次交换以净化颗粒。产物很有助益地被收集在盘片末端，在此，它可以容易被取得而用于随后的用途。包括许多这些合成阵列的盘片，允许同时合成许多颗粒相联的寡核甙酸，也予以提供。

### 实施例 10

#### 微量萃取系统

25 一种如实施例 1 中所述的(见图 27)的盘片，作为 HPLC 或其他通常的生物化学分离方法的一种替代，来自溶液或混合物组分微量萃取溶质。具体地说，盘片上的槽道通过各标准作法涂以一种化合物(诸如辛醇)以提供对于某一混合物，一般是复杂的化学或生物化学混合物的组分具有亲和力的表面。在硅质盘片的情况下，比如，此槽道的表面通过 95 °C 下以水性环氧硅烷充满腔室 1 小时来使之活化。盘片用蒸馏水冲洗大约五次以清除未起反应的硅烷，而氨基辛烷加在一种溶剂之中并在 95 °C 培育 1 小时，随后是溶剂漂洗  
30



以清除未起反应的辛烷。

5 包含有待洗脱的组分的样品混合物添加于注入孔口并通过以 1 至 30000 转/分的速度转动盘片使之移动经过涂敷过的分离槽道。各试剂储囊在槽道的进口处被打开并被用以洗脱保持在涂敷过的槽道上的样品达到收集储囊。分隔出来的样品组分然后在一出口处予以收集。

### 实施例 11

#### 自由区毛细电泳

10 自由区毛细电泳在如以上实施例 1 中所述制成的盘片上进行，在图 18 中示意表明。具体地说，5 微米 × 75 微米 × 25 毫米毛细管(将会认识到，所有尺寸都大致处在在制作诸如盘片上各毛细管这样的各部件方面的精确度界限之内)是用石版印刷方式蚀刻在玻璃盘片上的。电气连接装置通过在密封装置顶部之前在玻璃的未经蚀刻的表面上镀铂而使用各标准方法予以完成。分离槽道相交于离开缓冲储囊 3 毫米远而设置的 15 毫米样品引进槽道。相交的槽道在一端处具有样品入口，而在任一端具有电气连接装置以控制样  
15 品施加于毛细管。

在盘片上从事毛细电泳的实践中，分离槽道通过以 1 至 30000 转/分转动盘片从缓冲储囊予以充灌满。当此槽道被充满，转动立即停止，直至再需要对槽道施加压力为止。通过在芯片上相交的被分析物入口和被分析出口两槽道之间施加电压来引进样品(见图 28)。50 伏电位降施加在样品入口和出口  
20 之间，而在分离槽道的各孔口之间是浮动的。样本包括一种溶液，具有 5 毫摩尔 EDTA、1 毫摩尔 Tris - HCl(pH8)连同 1 毫摩尔  $Mg^{2+}$  和 1 毫摩尔  $Ca^{2+}$  (一般从氯盐中制取)。流动的缓冲剂由 10 毫摩尔 Tris - HCl(pH8)、5 毫摩尔 EDTA 组成。然后通过浮动在样品储囊处的电位和沿着分离槽道施加 250 伏而实现朝向阴极的分离。通过使用设置在装置上以与毛细槽道建立关系的  
25 UV 光源(汞灯)和光二极管检测器，来监测比如在 253 纳米处的 UV 吸收率，在离开入口 2 厘米的位置上，来监测分离状况。

### 实施例 12

#### DNA 电泳

30 凝胶电泳在如以上实施例 1 中所述制备的盘片上予以进行。为此用途，凝胶介质制备在分离槽道之中，不过，这种凝胶介质必须防止随着在传送样品或缓冲剂到电泳槽道期间盘片的转动而产生的剪切力。因而，充满凝胶的



毛细管很有助益地同心地排列在盘片上，如图 29 所示意表明。结果，如果液体储囊在盘片转动期间接触毛细管，则凝胶在转动期间只经受来自向心力引发的剪切力。在静止时，盘片的平面几面状况可防止作用在毛细管上的液压。这是一项胜过标准电泳系统的一项优点，在此系统中，液压不是很容易控制，因为各缓冲剂容量，即各储囊高度，需要在每次流通之前仔细地予以调节以避免流体动力流动。这也是在本发明盘片上进行的毛细电泳胜过在各微型芯片上从事的电泳的一项优点，在下一电泳中，各缓冲储囊设置在分离槽道平面以上并因而易于发生由液体动压力驱动的液流。

凝胶电泳在本发明盘片予以实现以分离各 DNA 片断，包括双链体 PCR 片断、寡核武酸和单链的双脱氧核武酸终止的酶 DNA 定序组分，此系统设计得如图 29 所示。盘片制备得包括同心地排列在盘片上微型蚀刻成的分离槽道之中的聚丙烯酰胺凝胶。聚丙烯酰胺凝胶从一种非聚合溶液中制备的，此种溶液是 7 摩尔尿素、45 毫摩尔 Tris - 硼酸酯缓冲剂(pH8.3)、1 毫摩尔 EDTA、9 % 丙烯酰胺、0.1 % TEMED 和 10 % 过硫酸铵。盘片可以通过具体地把 TEMED 和过硫酸铵引进混合物而混合各组分(在此将会认识到，非聚合的聚合化聚丙烯酰胺在储存时易于产生光催化的聚合作用)。足够的凝胶混合物通过打开从混合室到分离槽道的阀门和以 1 到 30000 转/分转动盘片而添加于分离槽道。一旦分离槽道充满，盘片就停止下来以允许凝胶聚合化。在聚合化完成之前不久，由一阀门控制，流出槽道通过使用来自槽道出口一侧处的较大缓冲剂储槽的缓冲剂予以冲洗以消除泡沫和非聚合的单体。在凝胶进口侧进行类似的操作。

为引进 DNA 样品，从装有 DNA 片断的溶液的入口处打开一阀门，或者另外，样品用滴管滴在盘片上。样品通过以 1 至 30000 转/分疾转盘片被施加于分离槽道，迫使样品和缓冲剂进入在凝胶以上充满缓冲剂的槽道。当样品引进到分离槽道和样品进入槽道，样品在进入分离基体之前集中在凝胶/缓冲剂界面处，类似于在通常的板状凝胶期间的样品浓缩。电泳是在 250V/厘米下进行的，以实现 DNA 片断的分离，阴极(正电极)设置在样品进入槽道以远的槽道出口端处。激光诱发荧光检测器设置在充满凝胶的毛细室的出口处以检测经过标记的 DNA 片断，如以上实施例 2 中所述。

### 实施例 13

#### 光谱仪径长延伸



在本发明转动构件中的光谱测量可能由于跨过盘片横向尺寸的光谱照射所形成的较小径长而受到限制。溶液的吸力强度取决于吸收层的深度，以及吸收分子的浓度(如 Lambert - Beer 定律中所述)。

5 虽然在本发明转动微型系统平台中的测量小室提供了很短的横向径长，但穿过盘片的侧向径长可以很大(即几厘米与几毫米之比)。光谱测量可以通过在侧向尺寸上引进光线穿过检测室而予以加强。

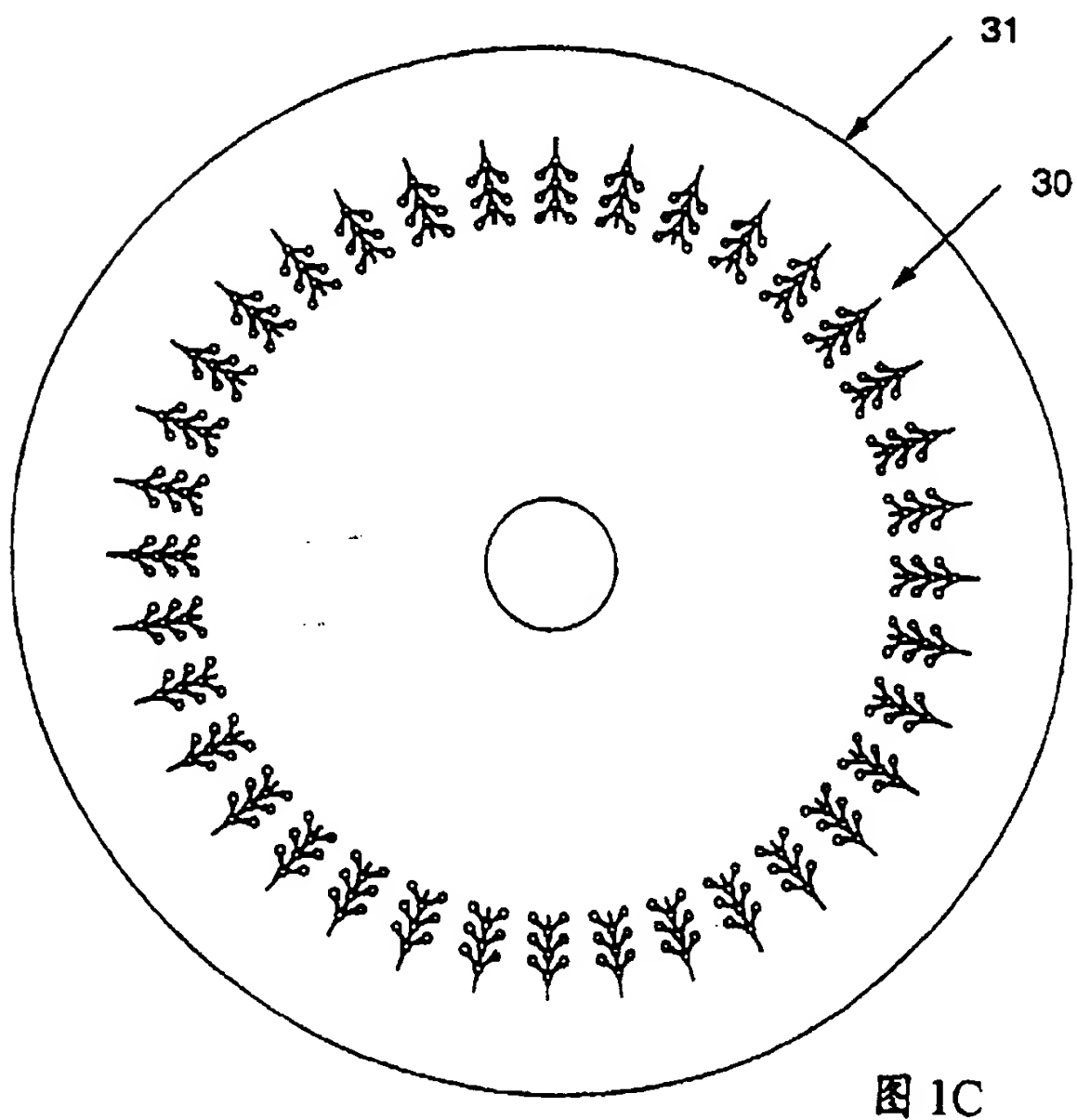
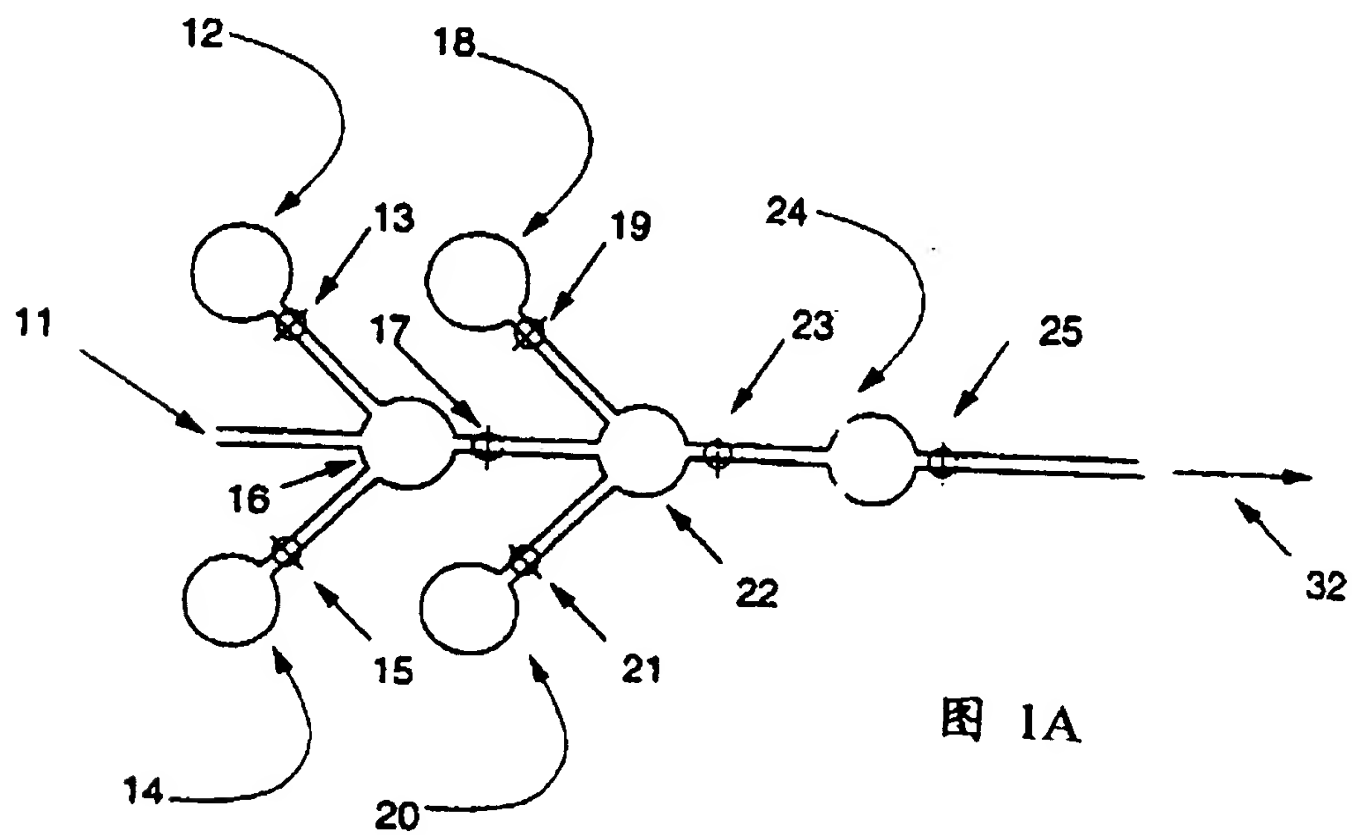
一种在侧向尺寸上形成横向照射的配置示于图 16。光束在垂直方向上射向盘片。镜具设置得与照射光束的方向成  $45^\circ$  角，从而光线沿侧向穿过检测室。光线通过检测小室并借助另一  $45^\circ$  镜具重新射在一光敏检测器上，诸如光二极管或光倍增管上。这些镜具可以插在盘片上，成一体地模制在盘片上，或者以金属喷镀制成在构成盘片的塑料或其他基底上。

#### 实施例 14

##### 细胞计数、识别和监测

用于识别生物样品中各种特定细胞或细胞类型的方法在此予以提供。比如，本发明的微型平台的制备方式是，使表面以吸附方式涂以大肠杆菌特有的单克隆抗体，而其余各处以 BSA 封闭。牛奶样品送到盘片上并置放得接触于包括涂以抗体表面的反应室。牛奶在此室中培育 30 分钟。然后旋转微型平台以除去不需要的物质。一定量的适于冲洗微型系统腔室的缓冲剂，通过出自包含冲洗缓冲剂储囊的微型槽道，然后添加于此表面或腔室，所述缓冲剂由离心力和打开微型阀门予以释放。在有用的实施方案中，此缓冲剂包括交联于一种酶(诸如过氧化物酶)的、大肠杆菌特有的单克隆抗体。因而，允许培育进行 5 分钟。盘片再次疾转，随同打开适当的微型阀门以便从腔室中除去冲洗溶液，添加一种包含酶底物的溶液(四甲基联苯胺和过氧化氢，此前保持在由微型阀门控制的微型槽道连接于反应室中的储囊之中)。在反应室之中的大肠杆菌多少按照检测出来的酶活性大小予以定量，后者以光谱分析方式通过一种吸收光线产物的出现或一种吸收光线底物的消失予以测定。

应当理解，前面的阐述了本发明的某些具体实施方案，而所有等价于它们的修改或替代都处于本发明的精神和范畴之内。



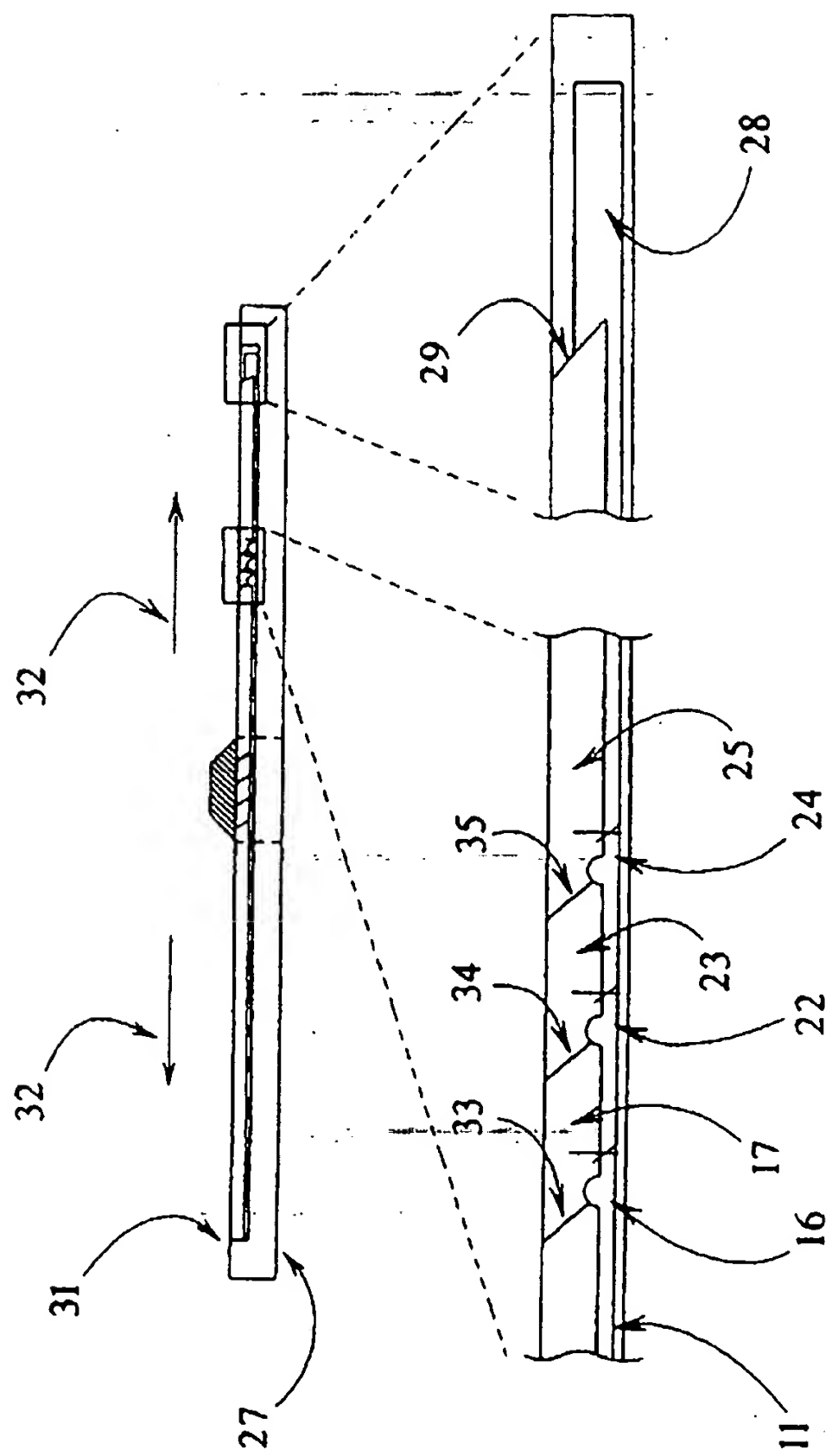


图 1B

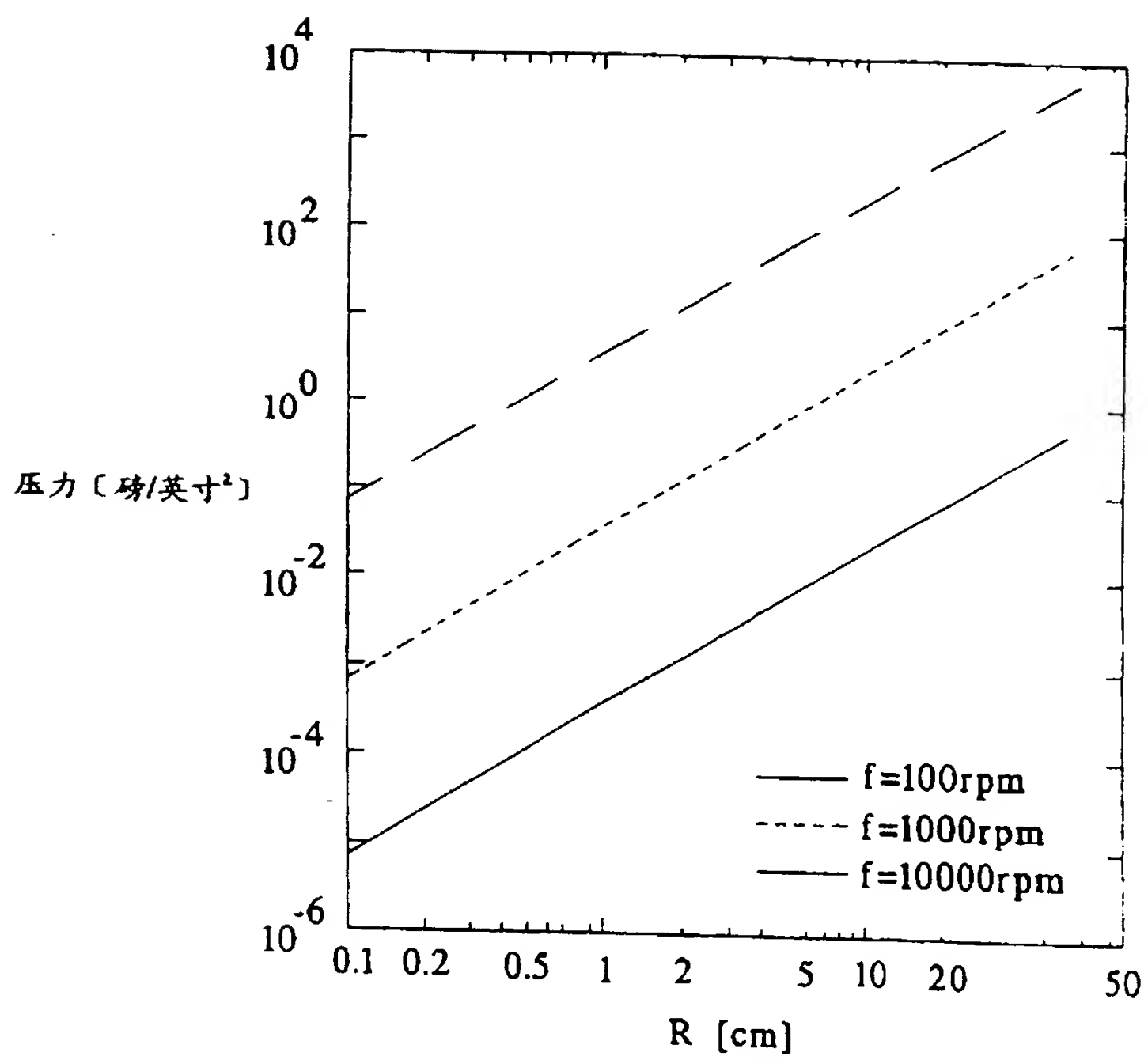


图 2A

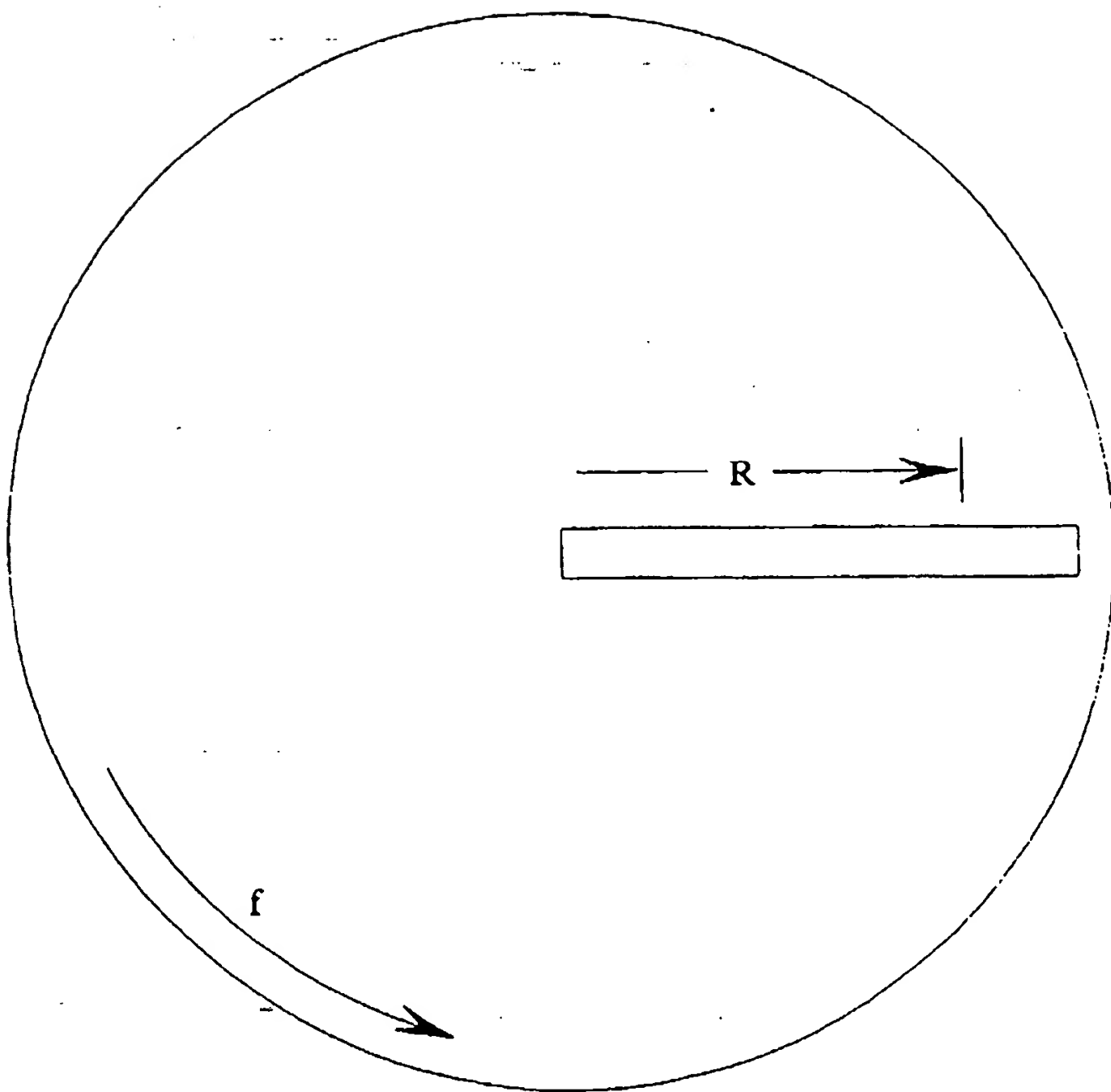


图 2B

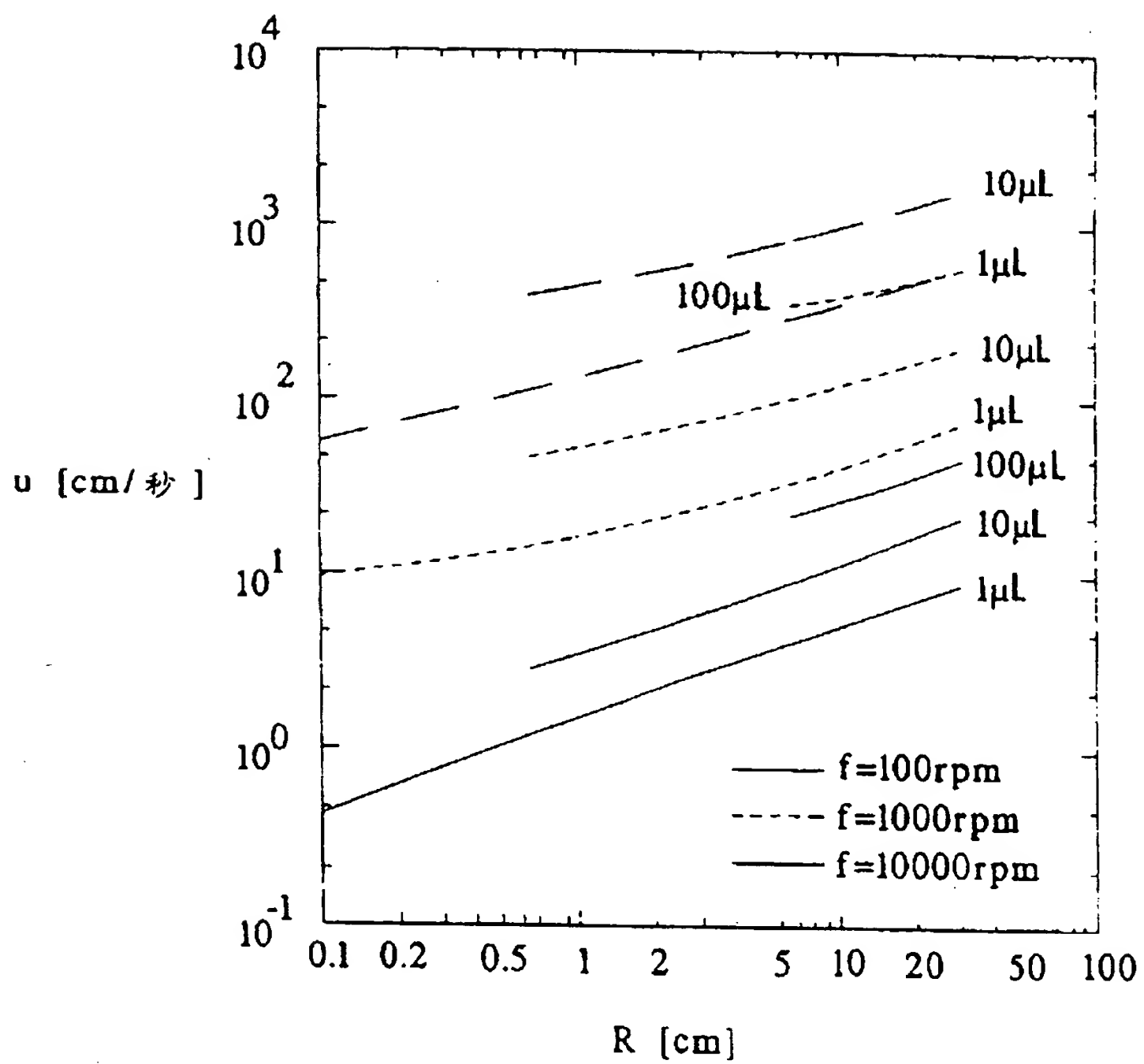


图 3A

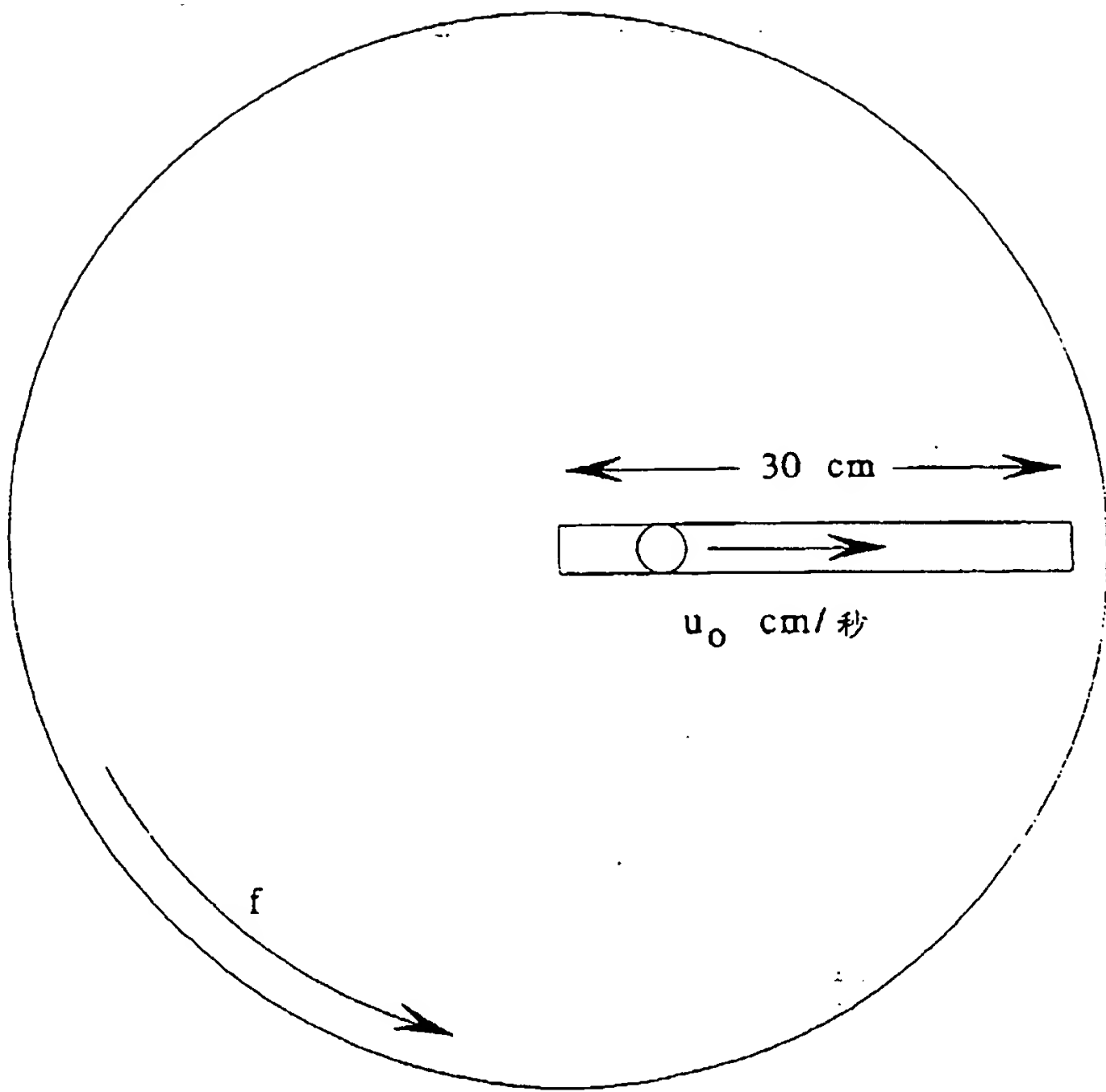


图 3B

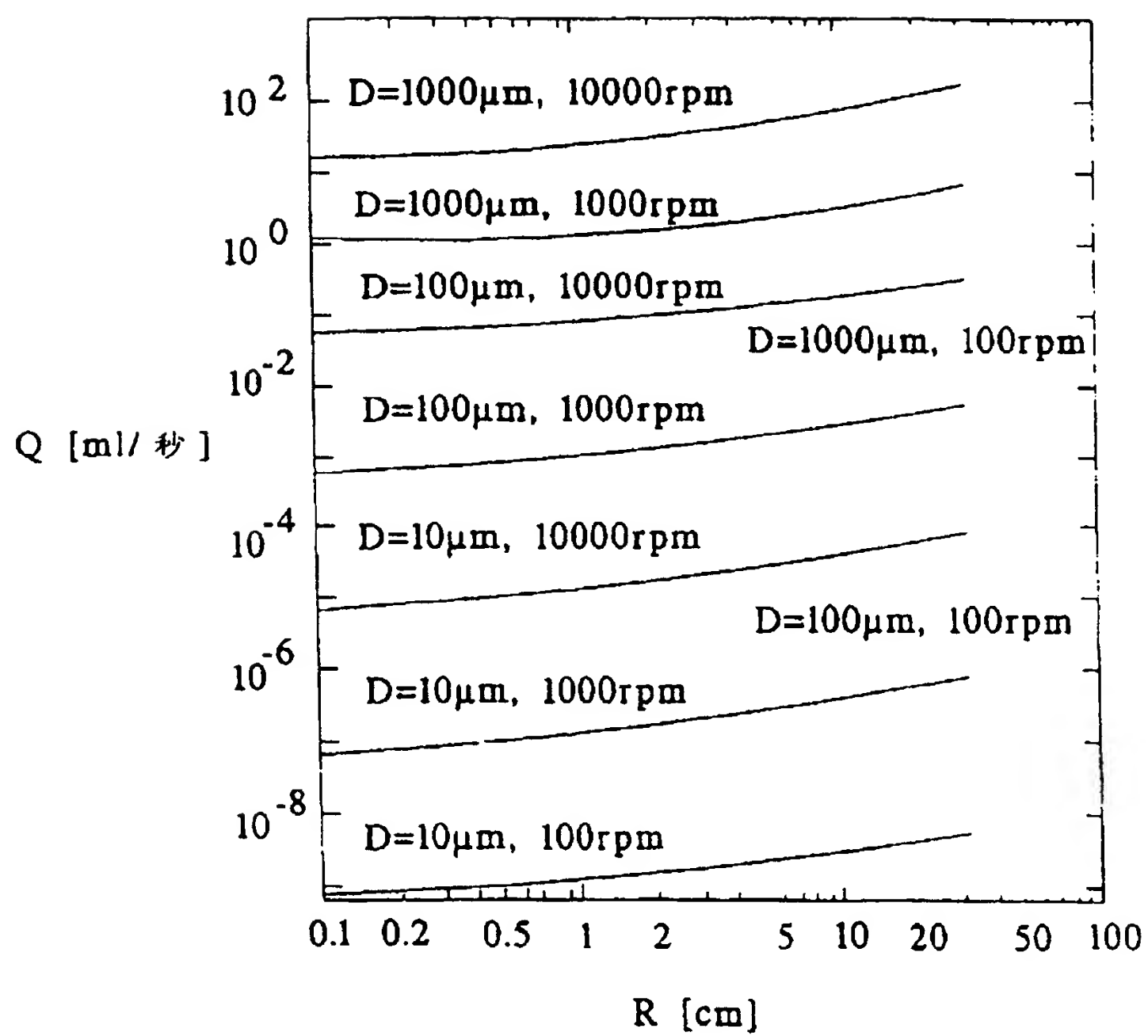


图 4A

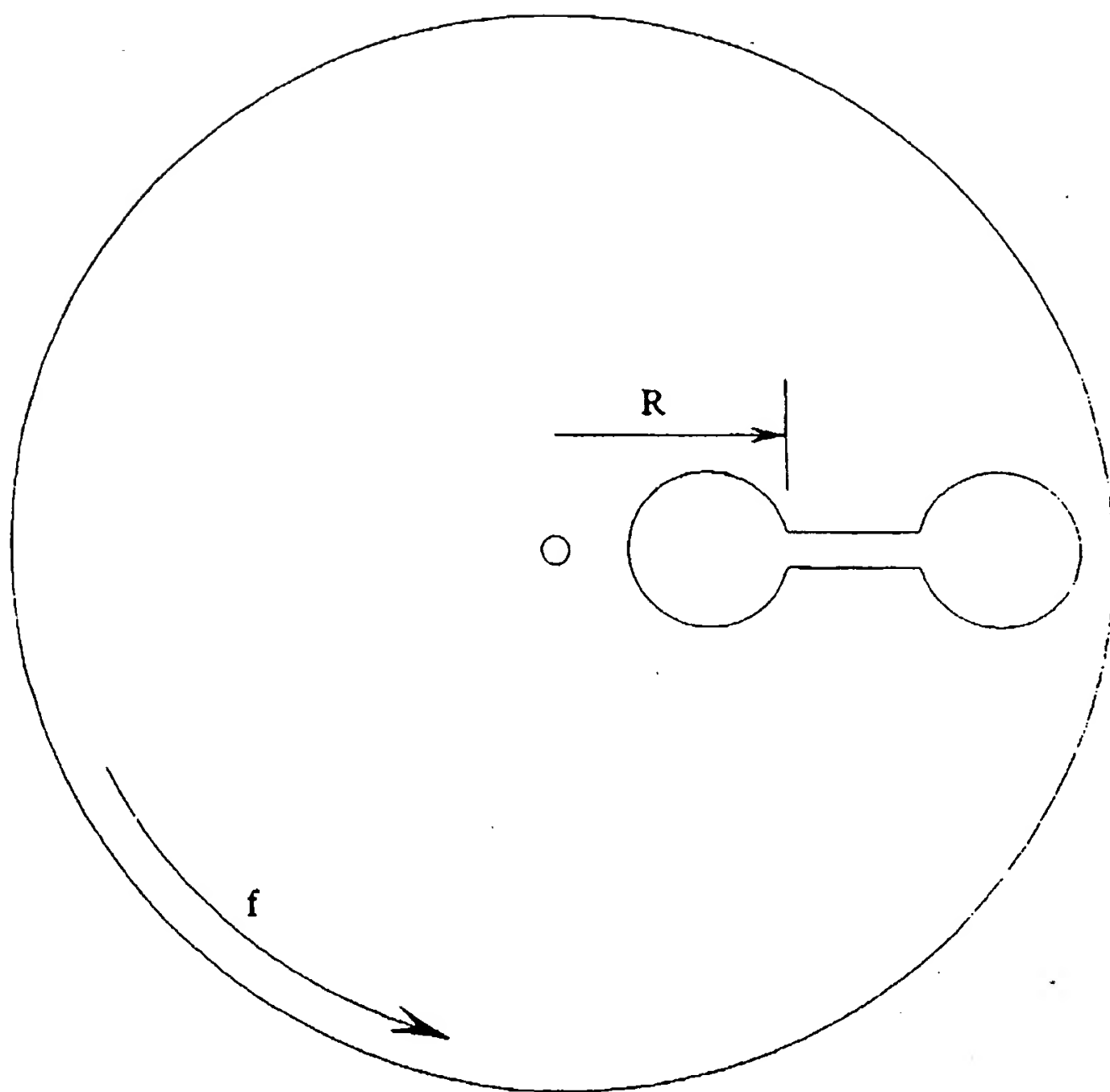


图 4B

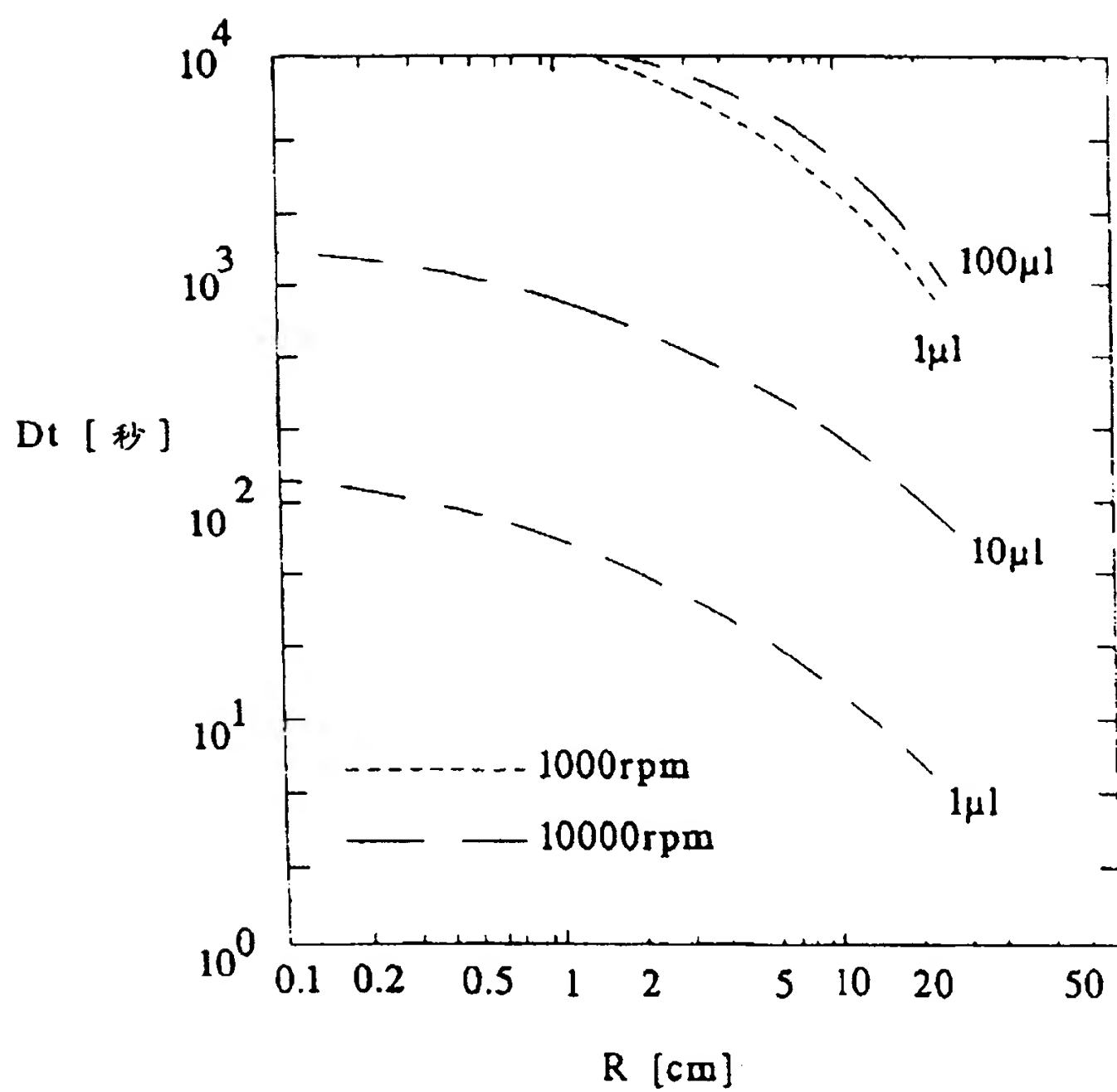


图 5A

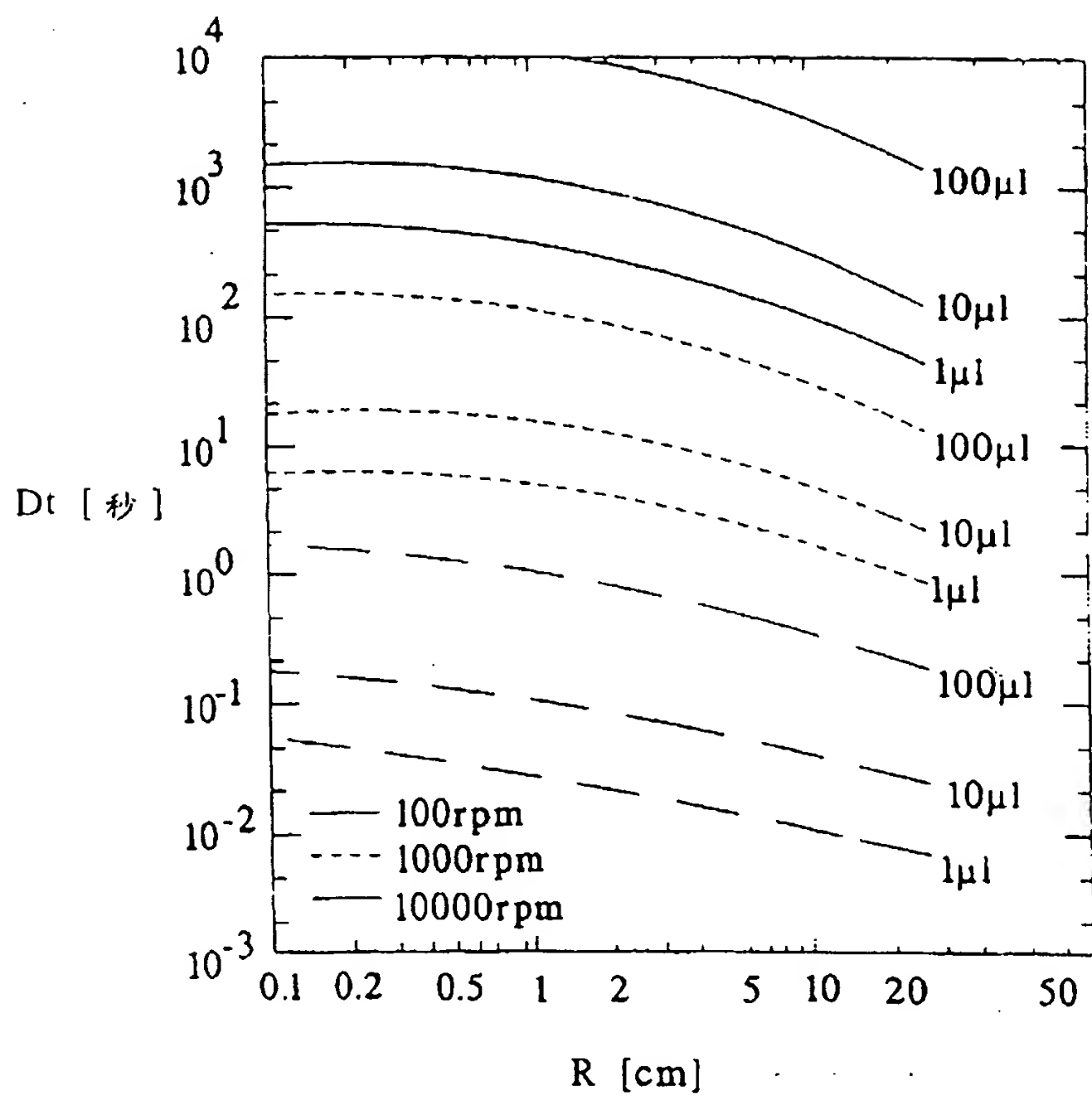


图 5B

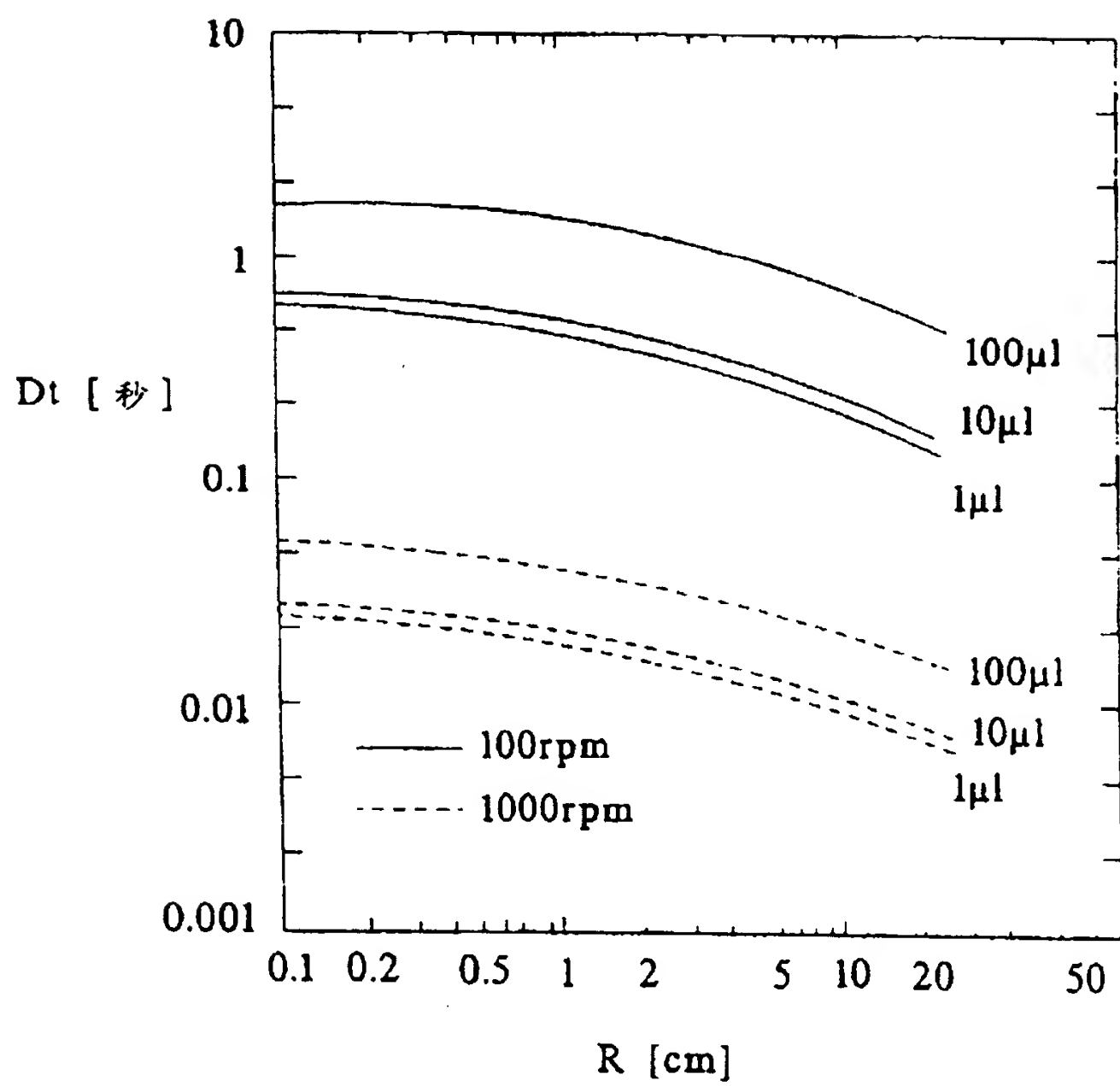


图 5C

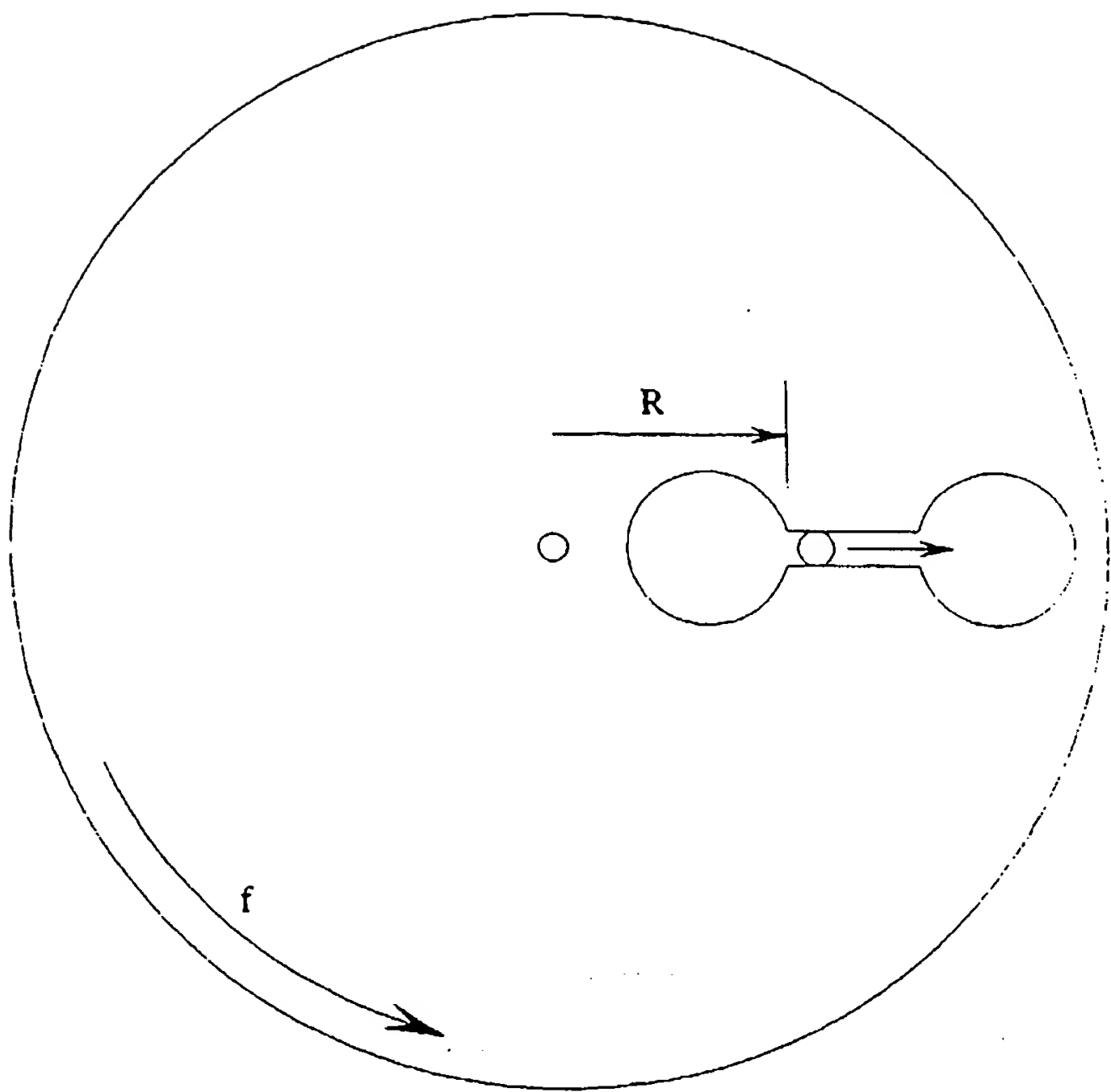


图 5D

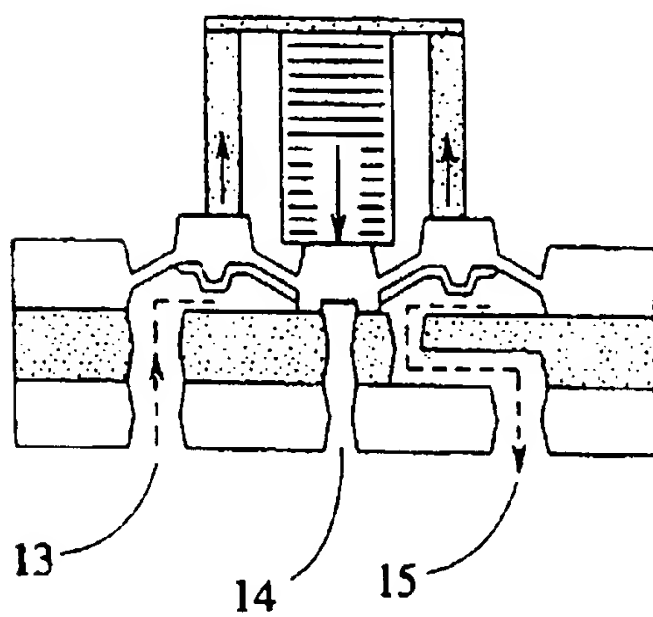
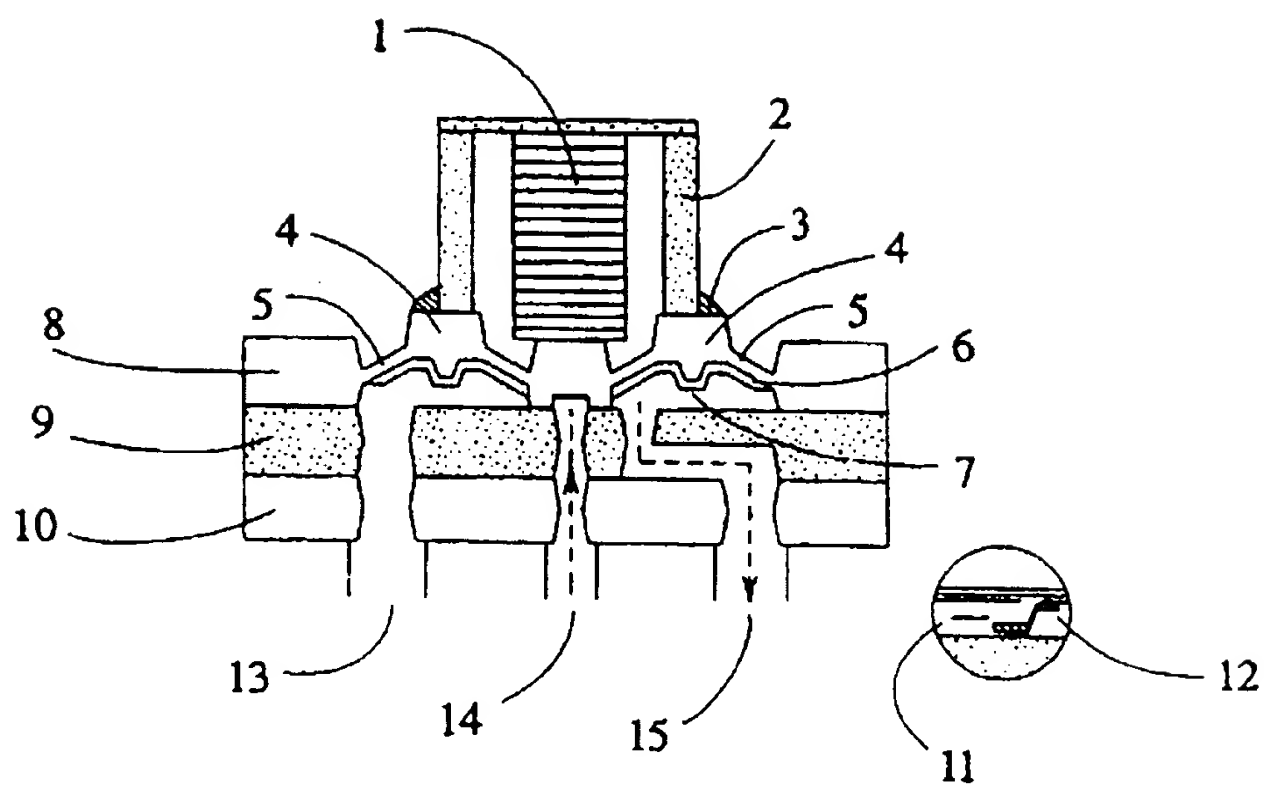


图 6

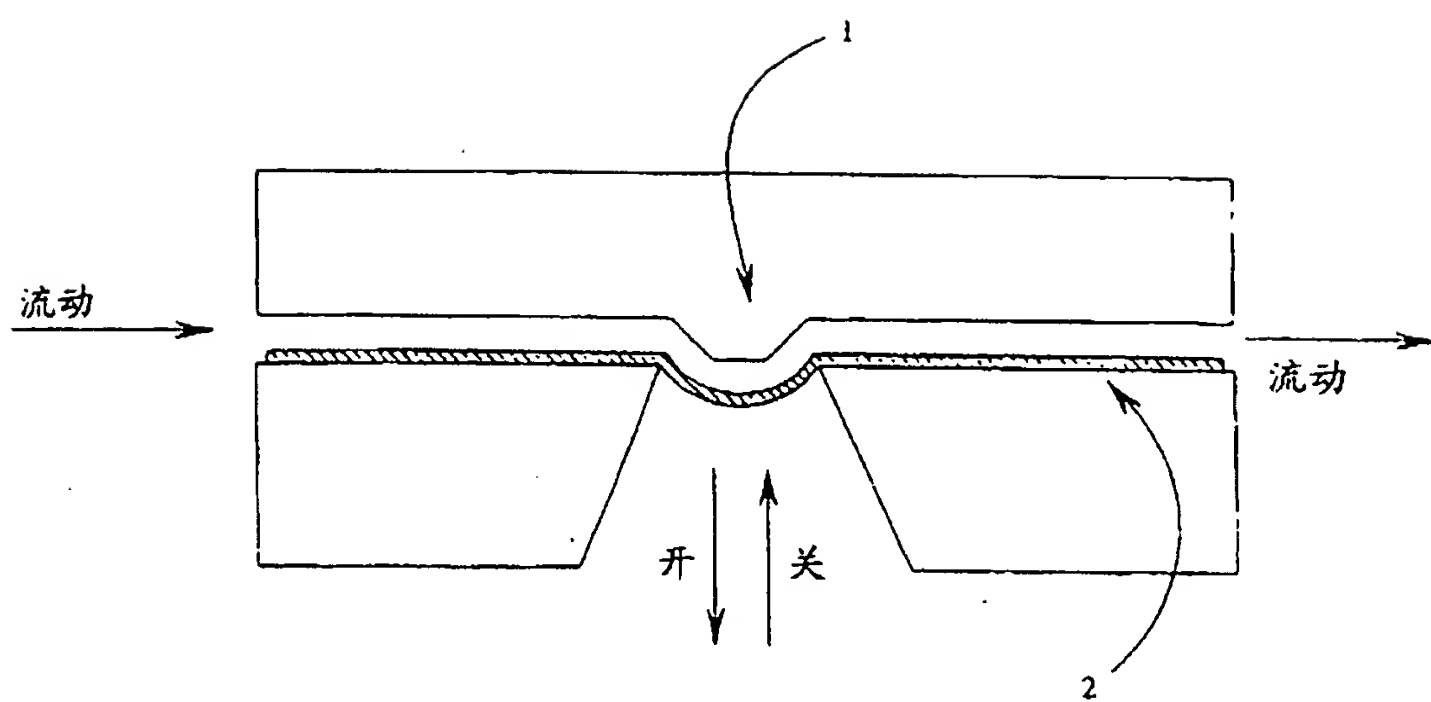


图 7

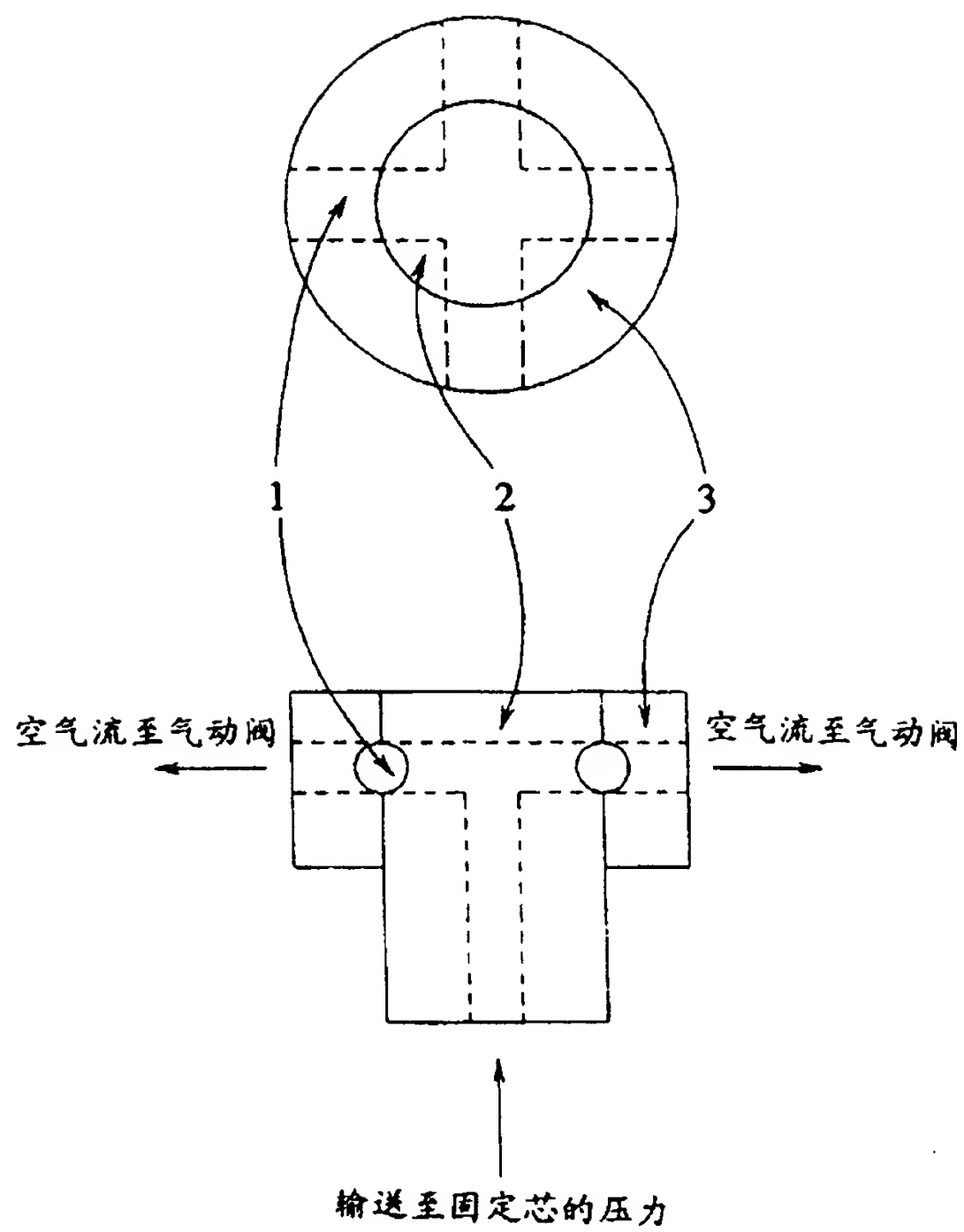


图 8

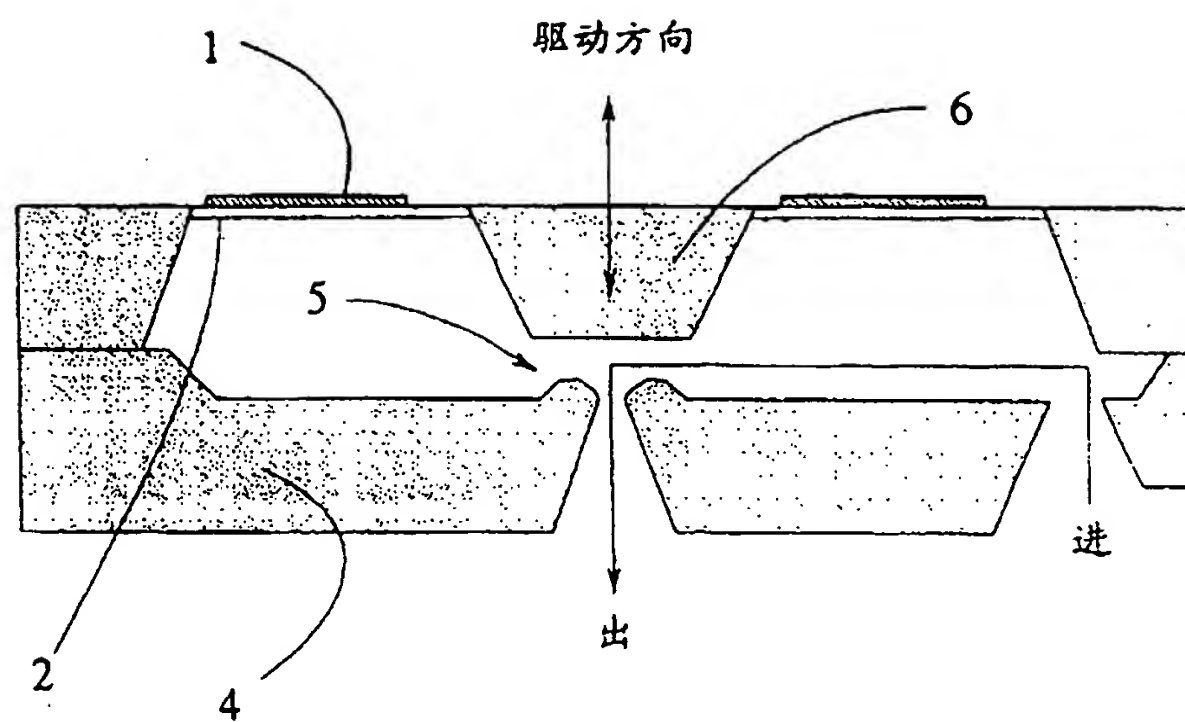


图 9

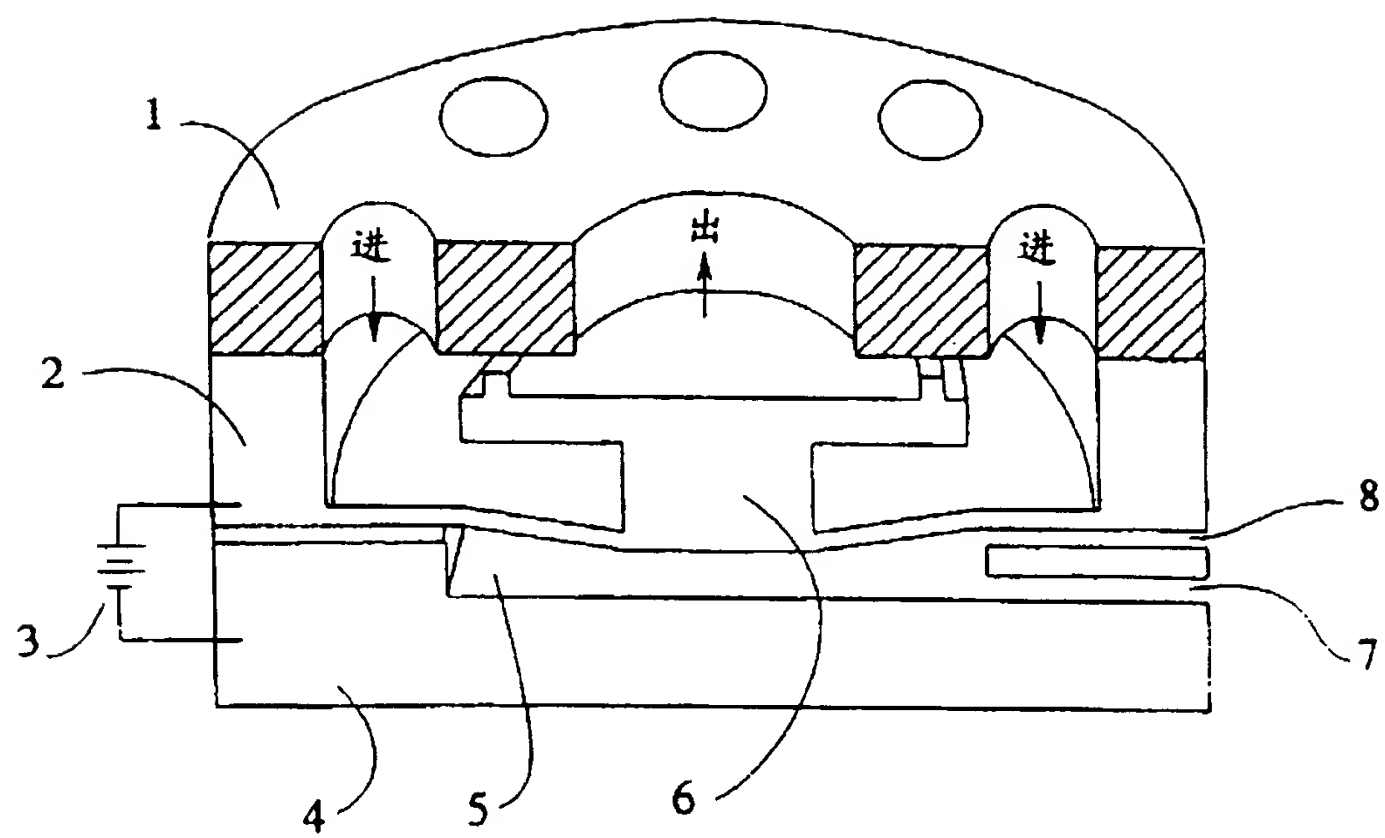


图 10

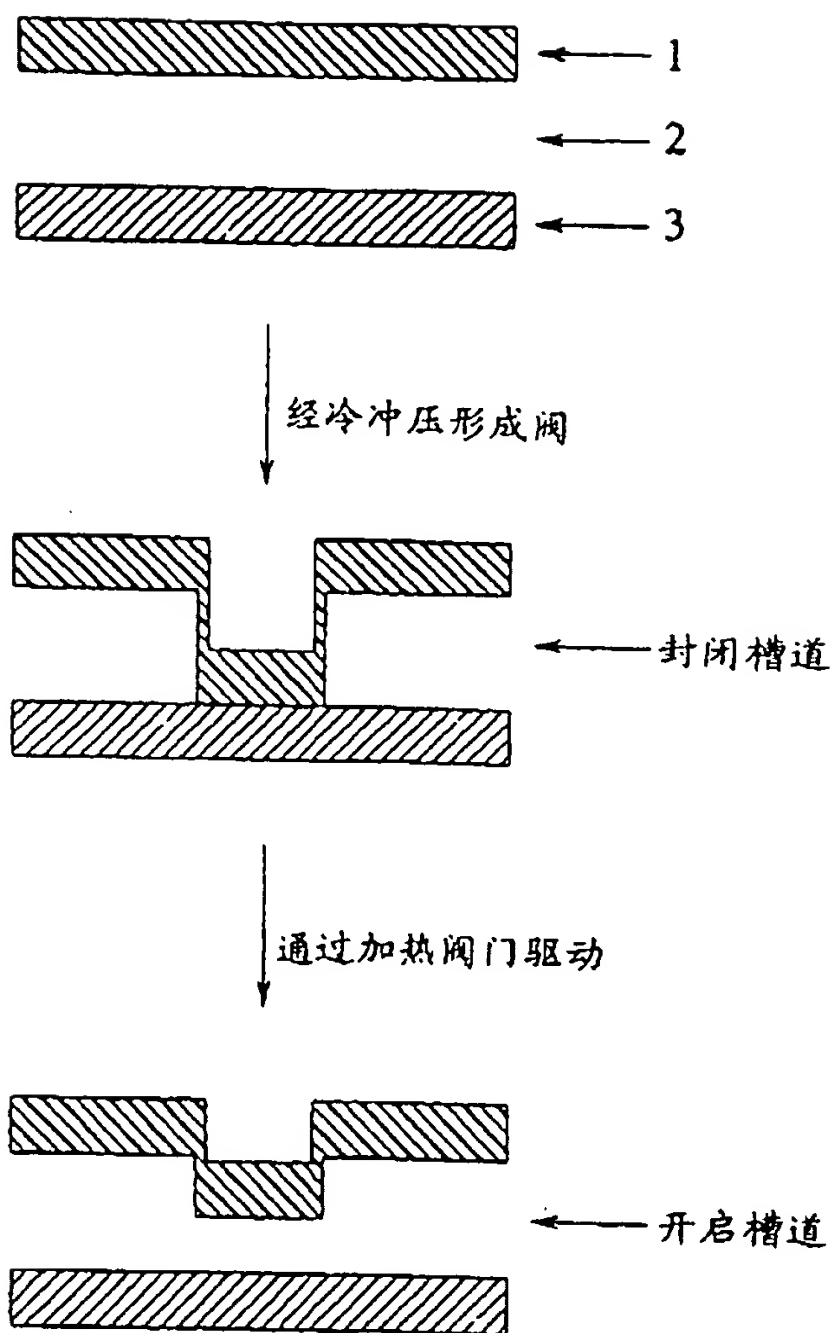


图 11

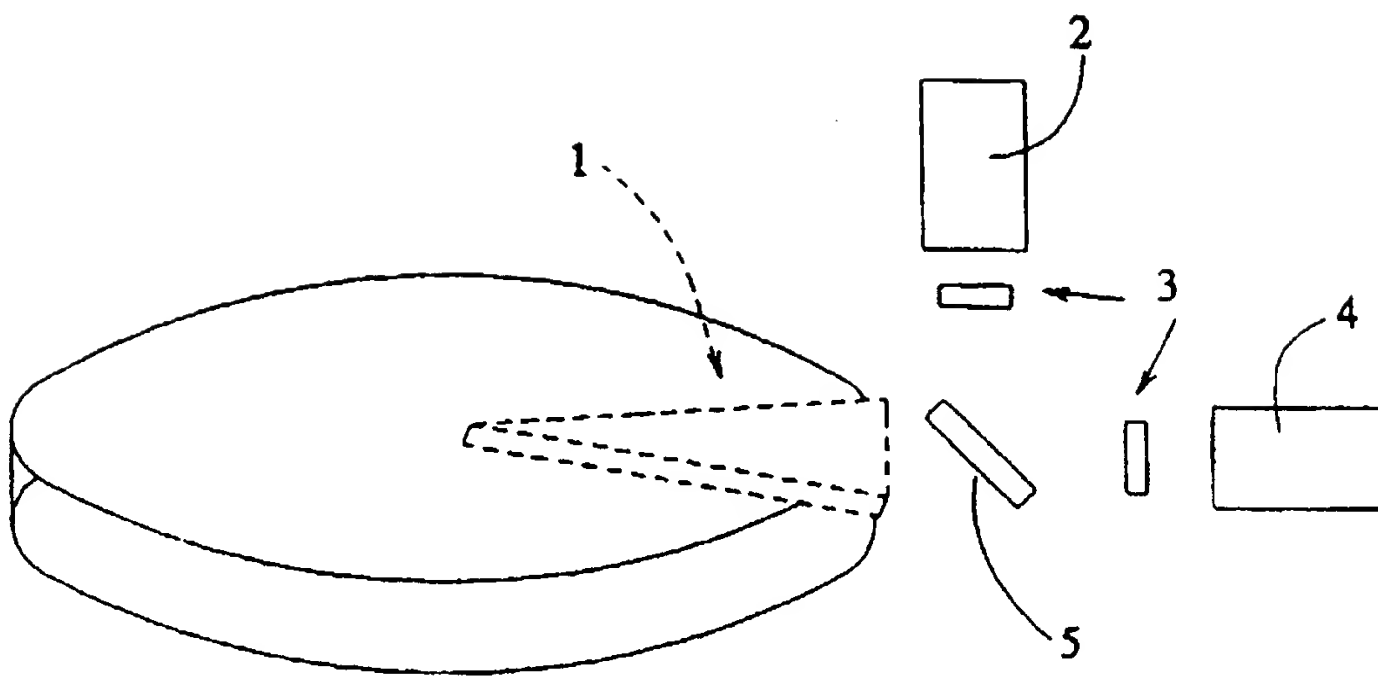


图 12A

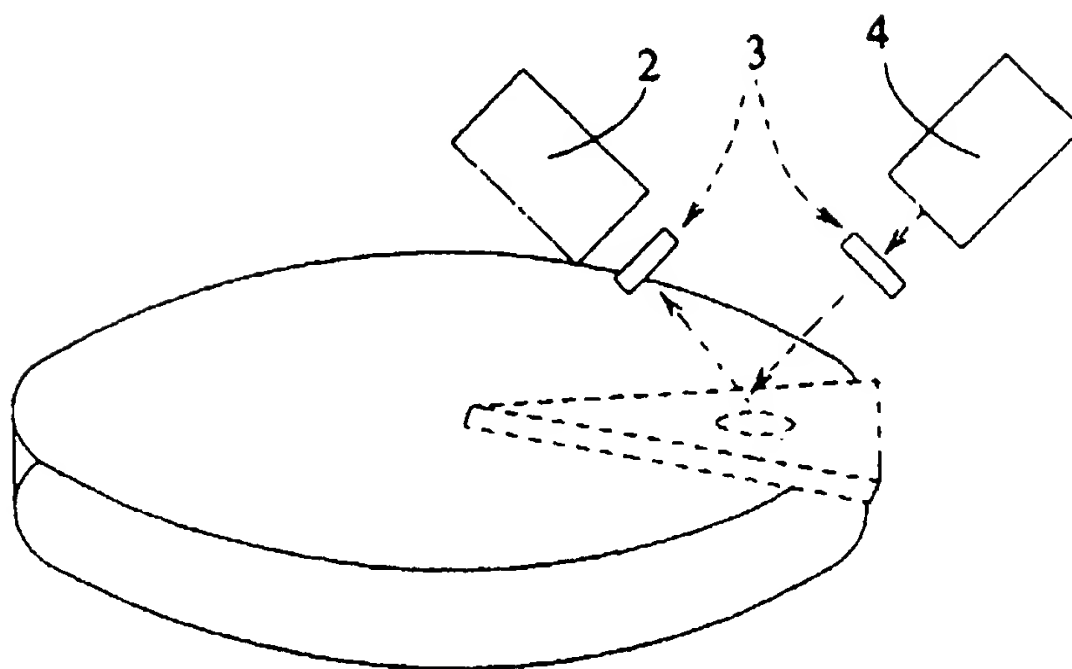


图 12B

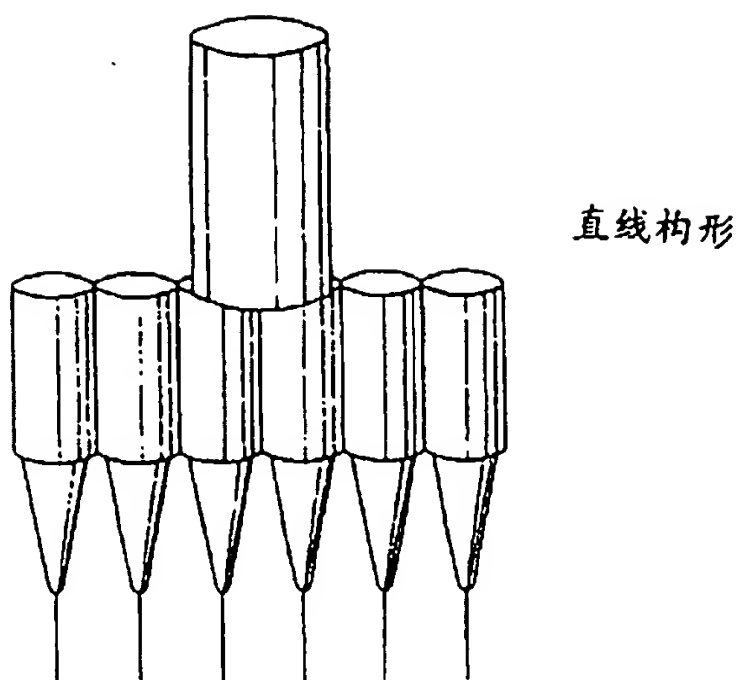


图 13A

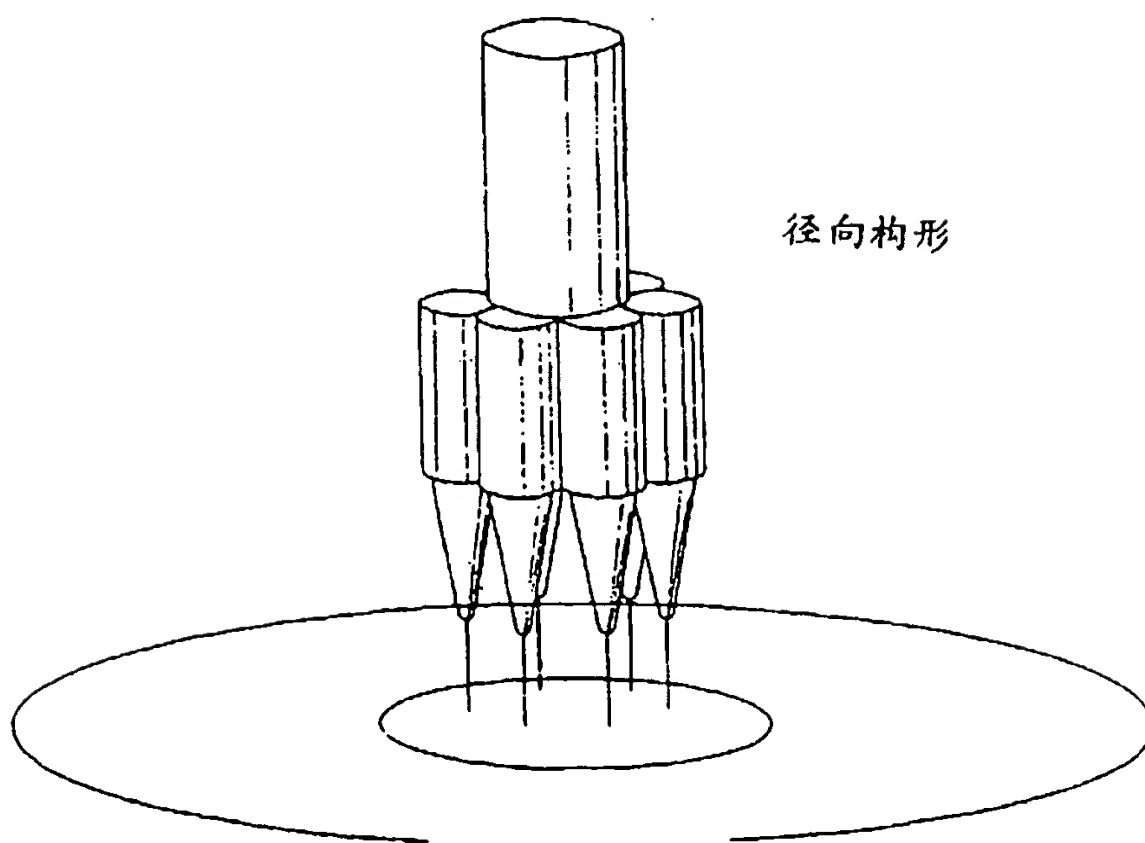


图 13B

径向构形

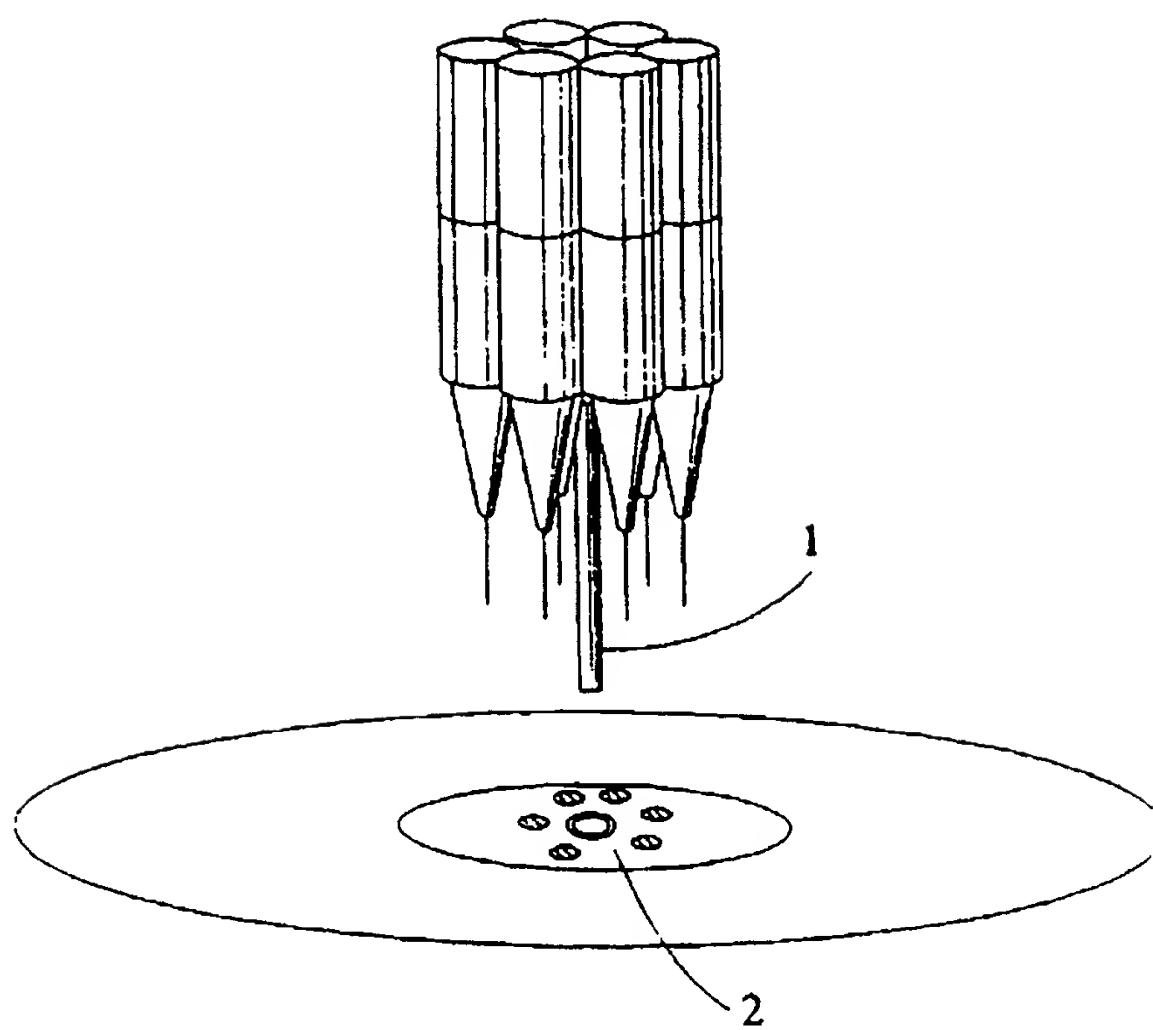


图 13C

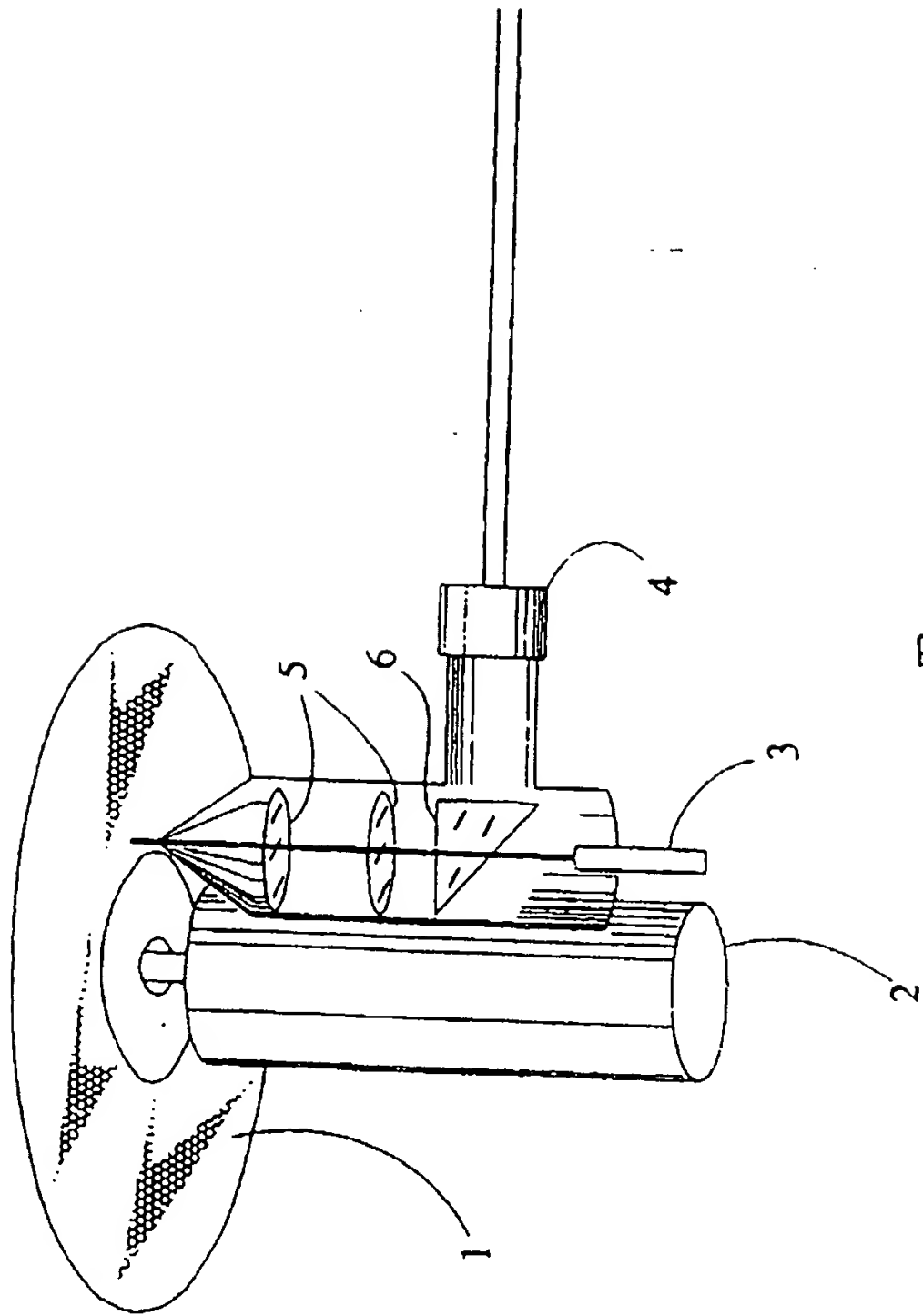


图 14A

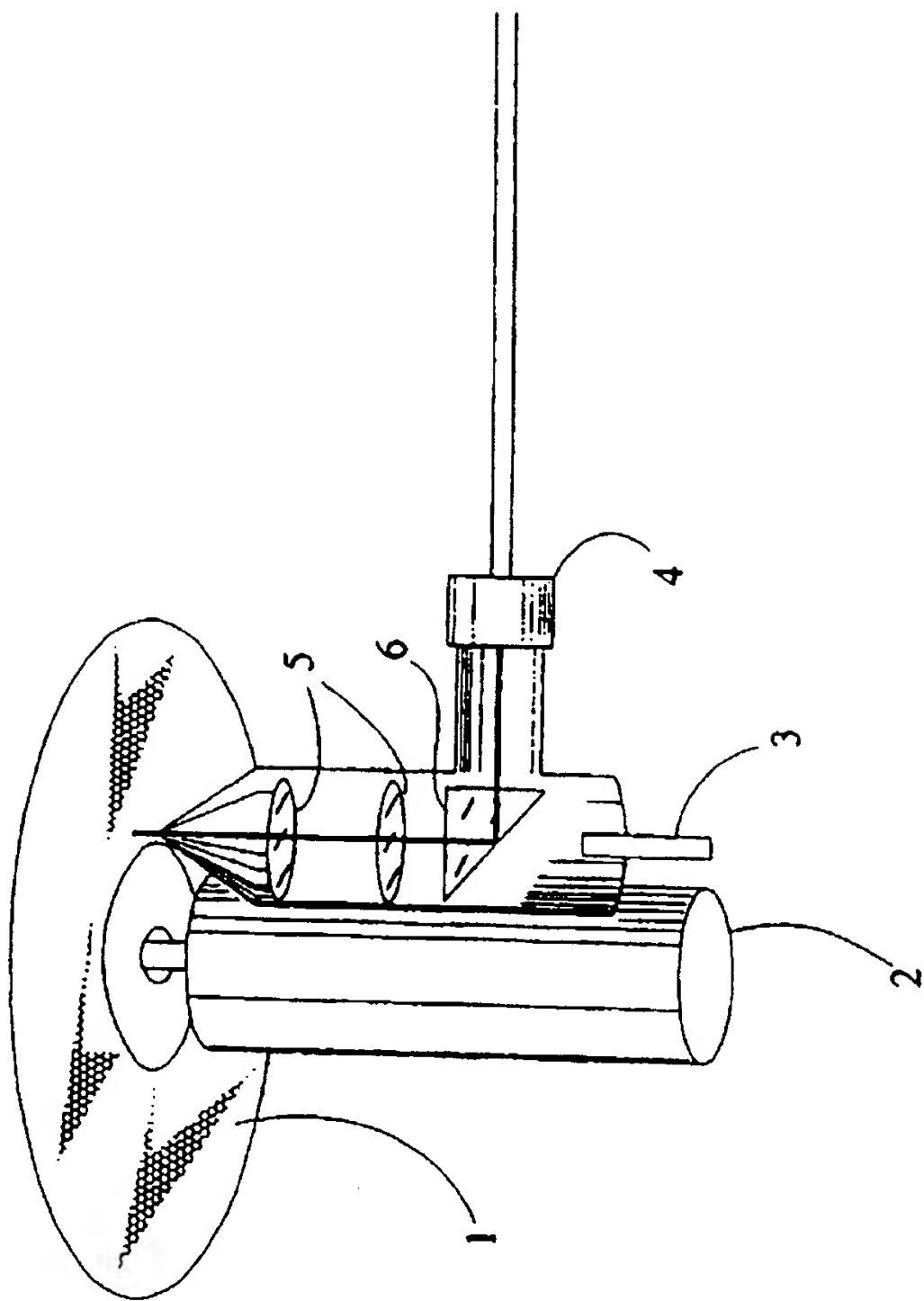


图 14B



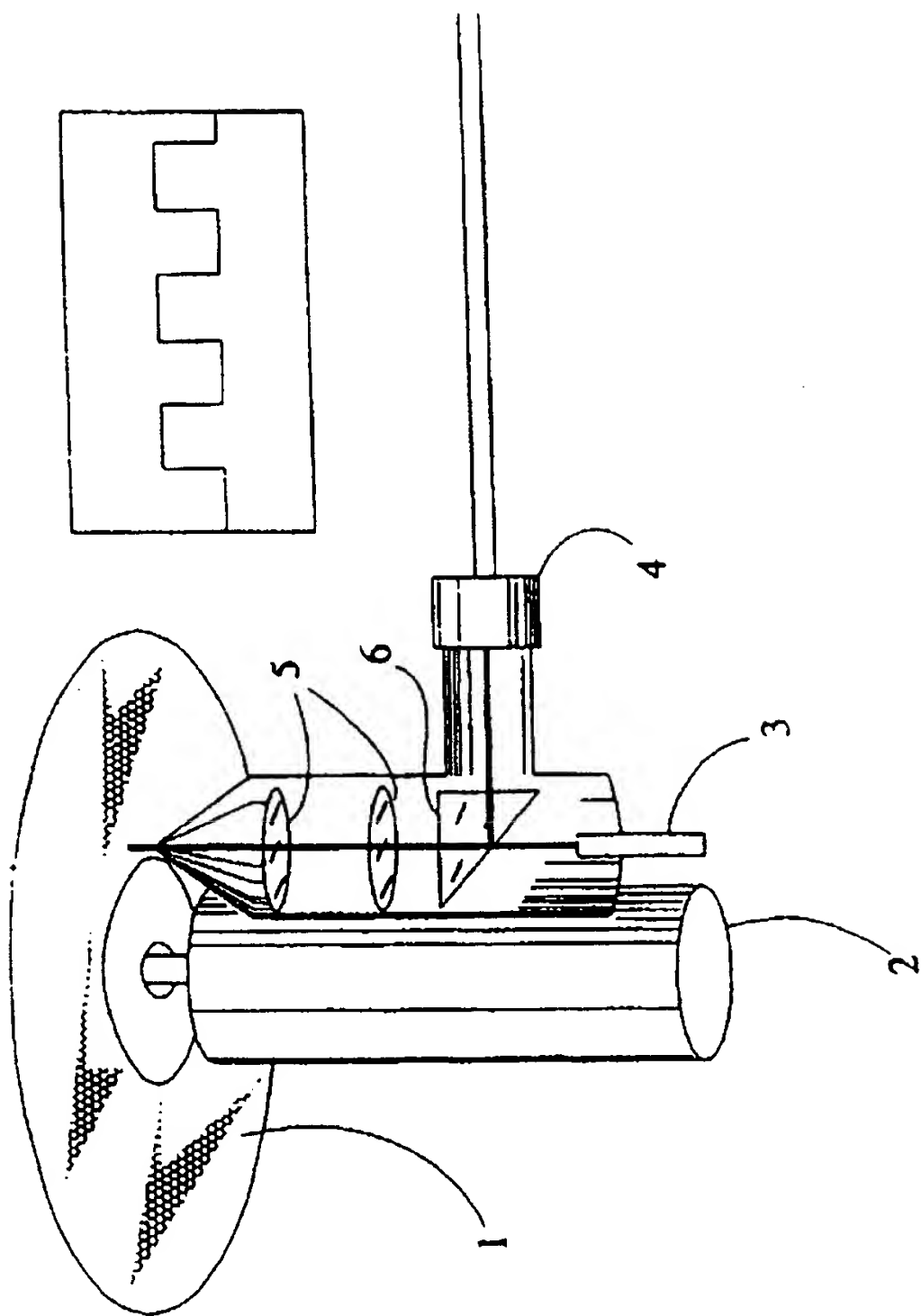


图 14D

激光束聚焦在盘片的凹坑和平地并反射到光二极管上。

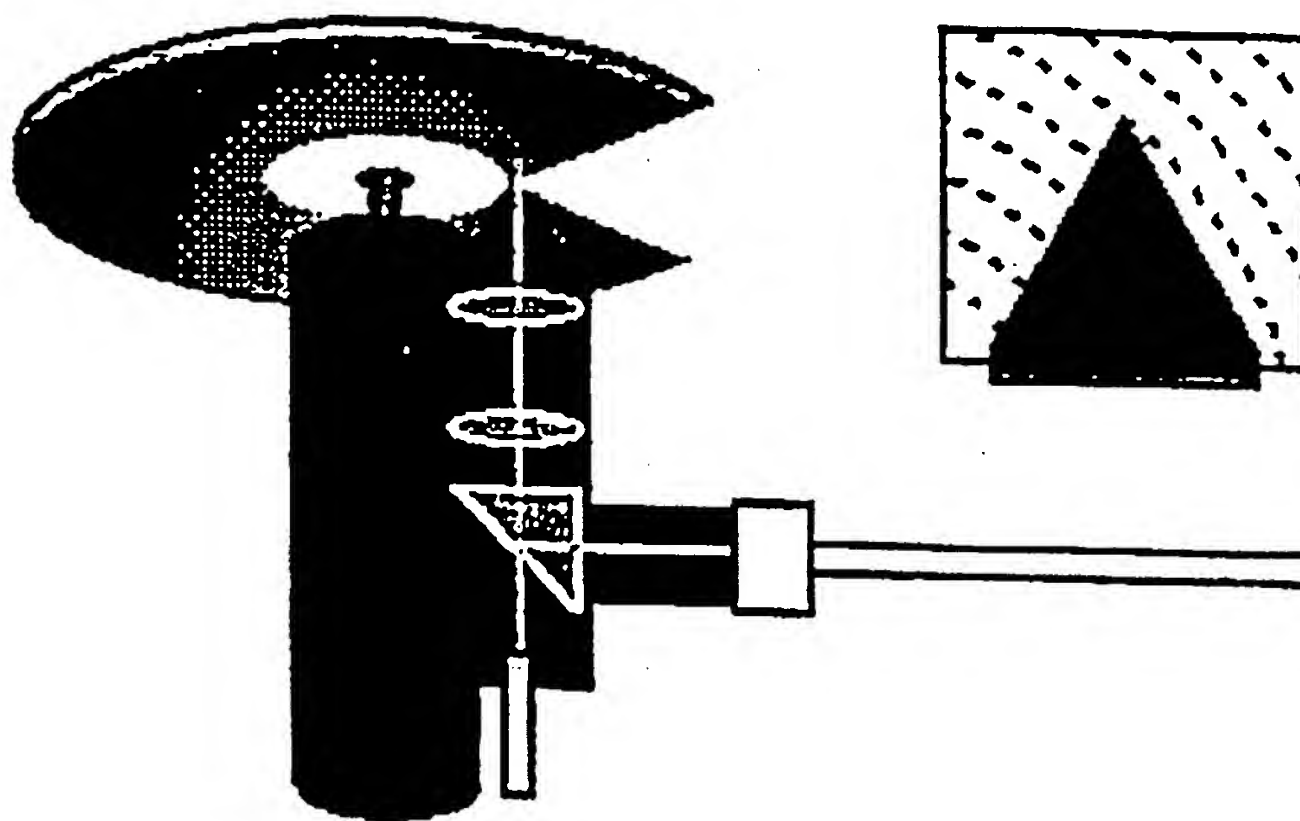


图 14E

光二极管把脉冲转化为电信号。

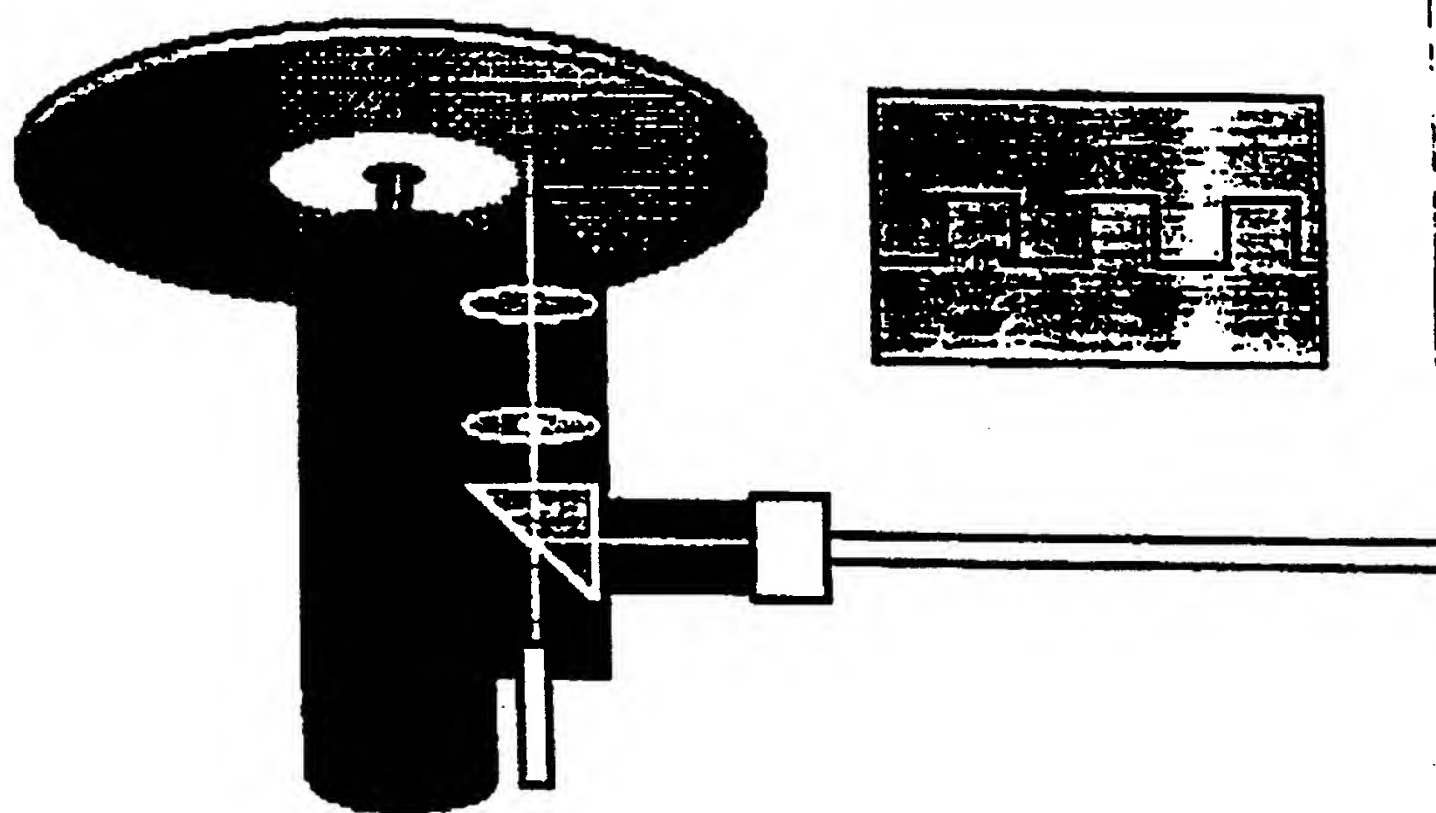


图 14F

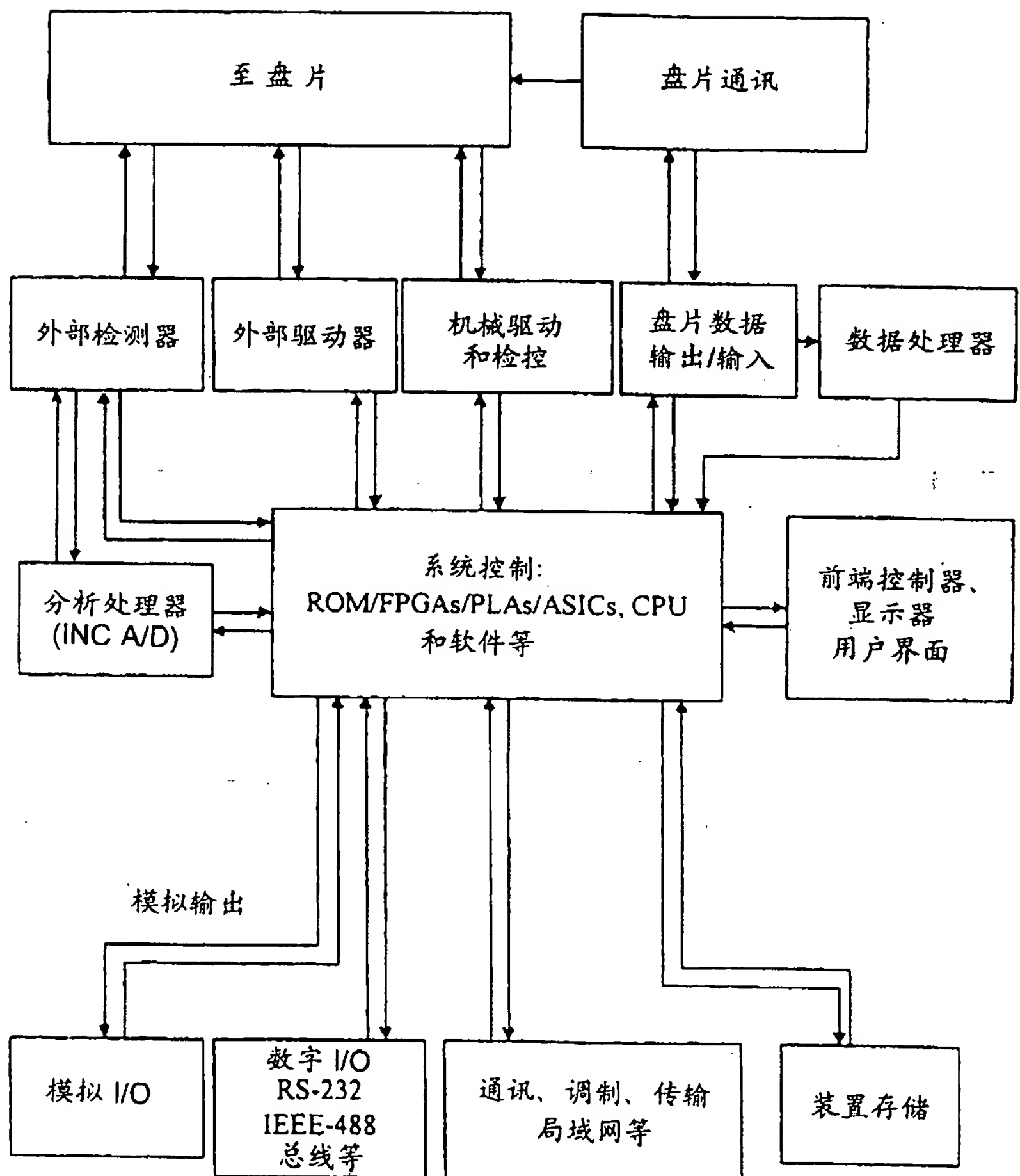


图 15

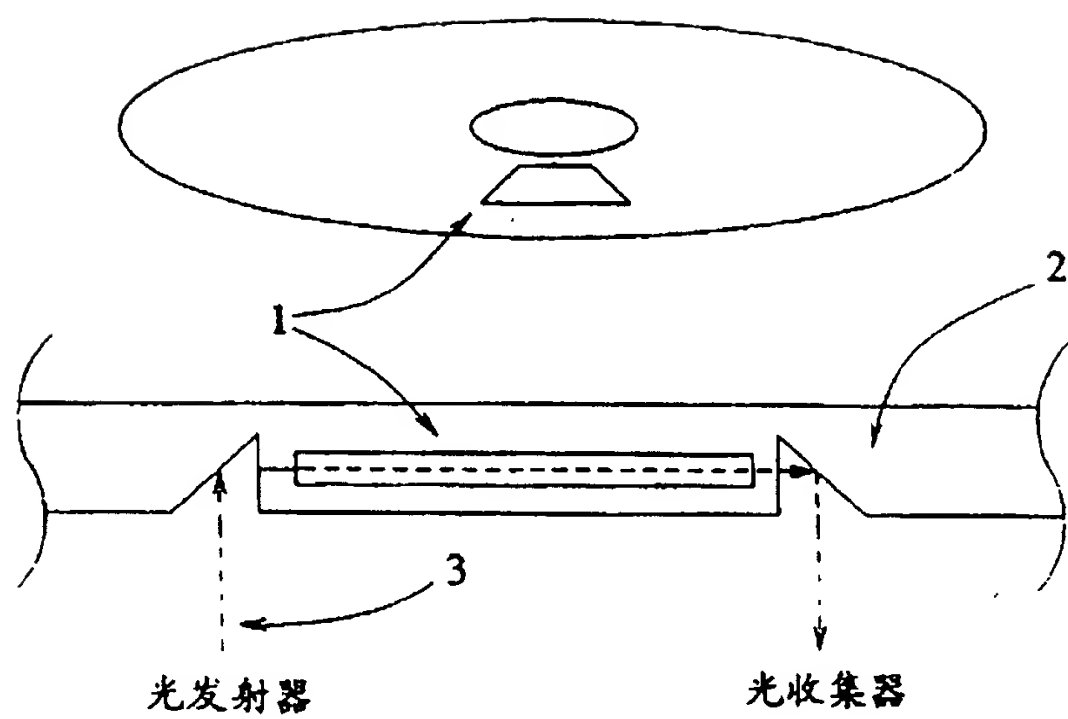


图 16

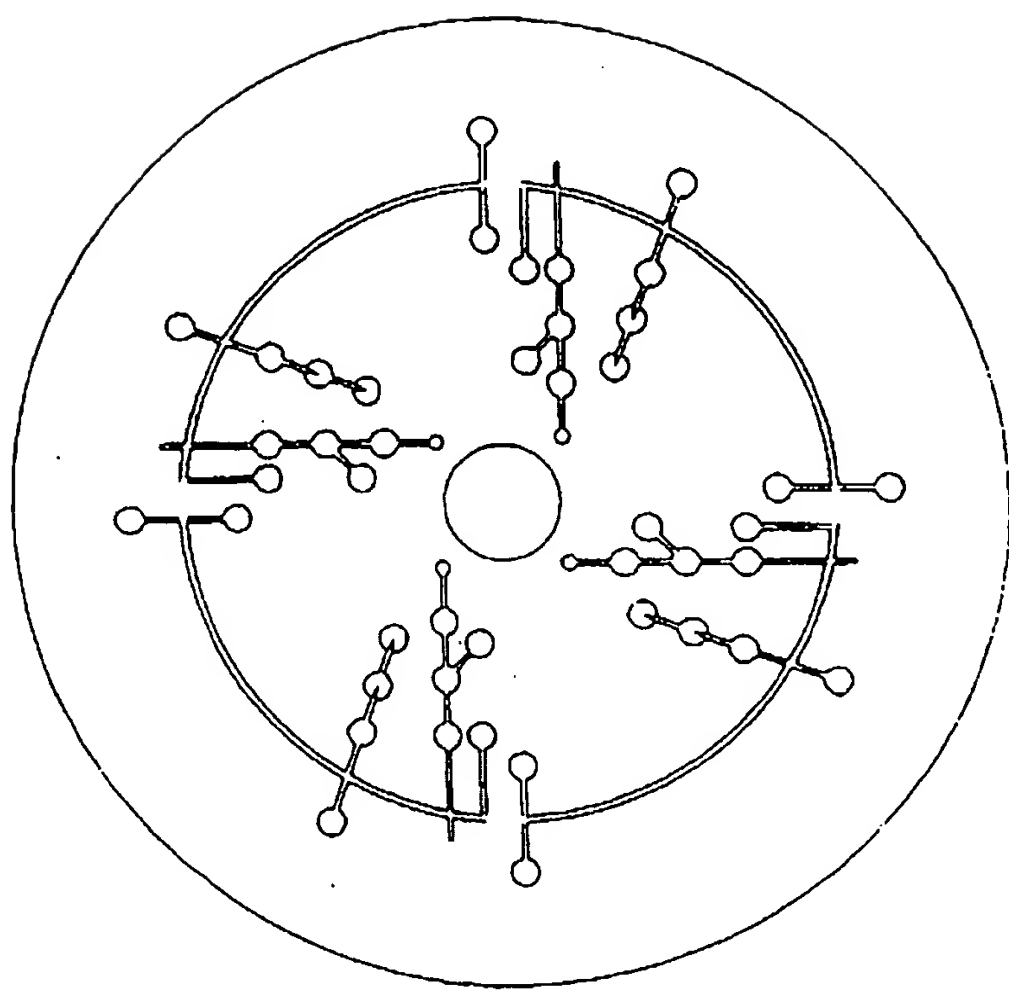


图 17A

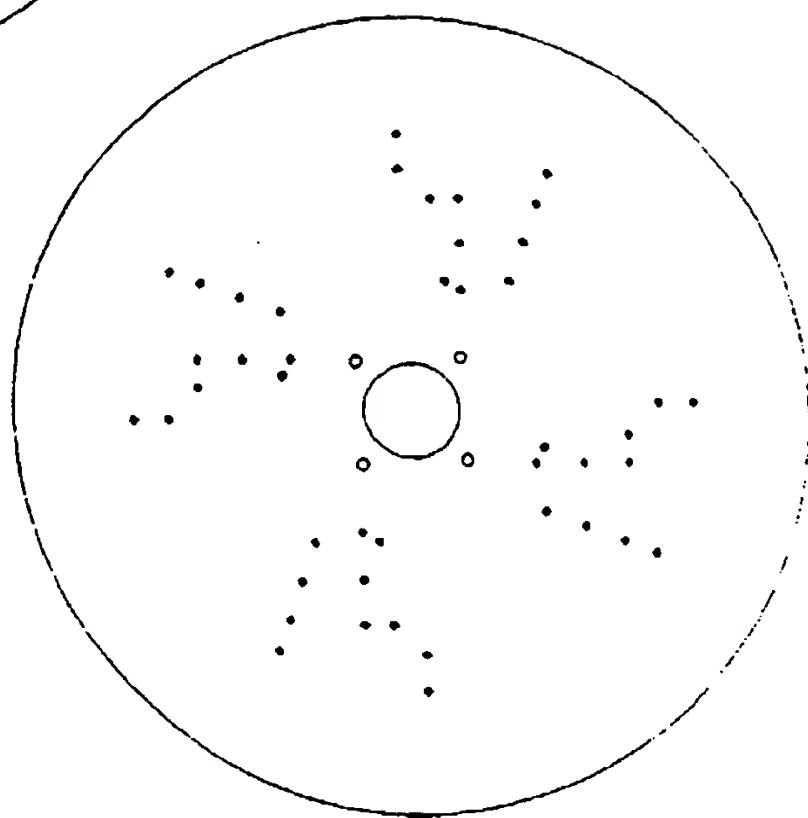
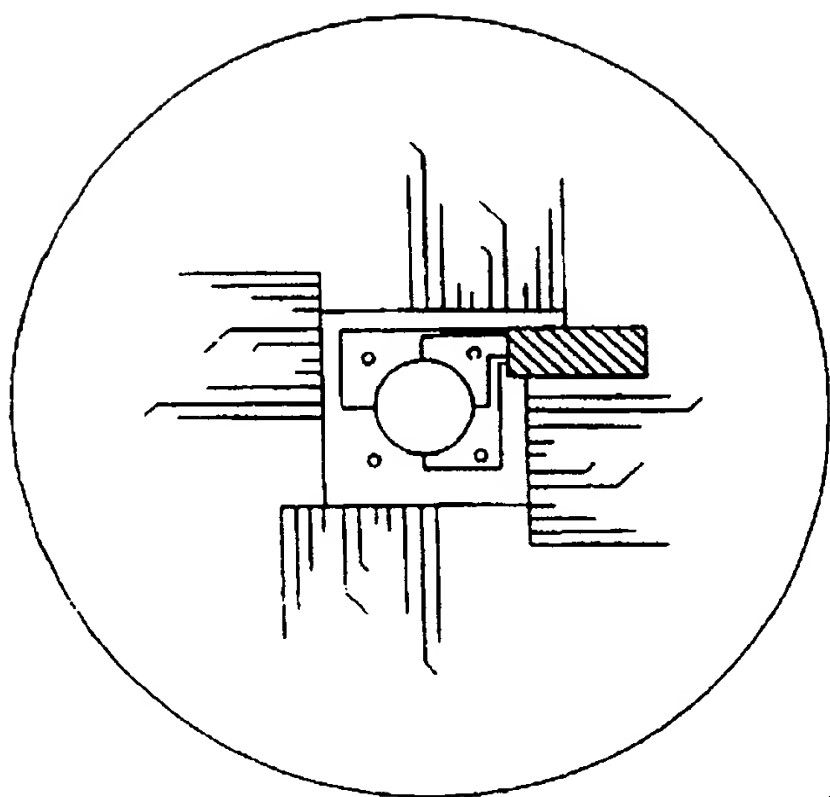


图 17B

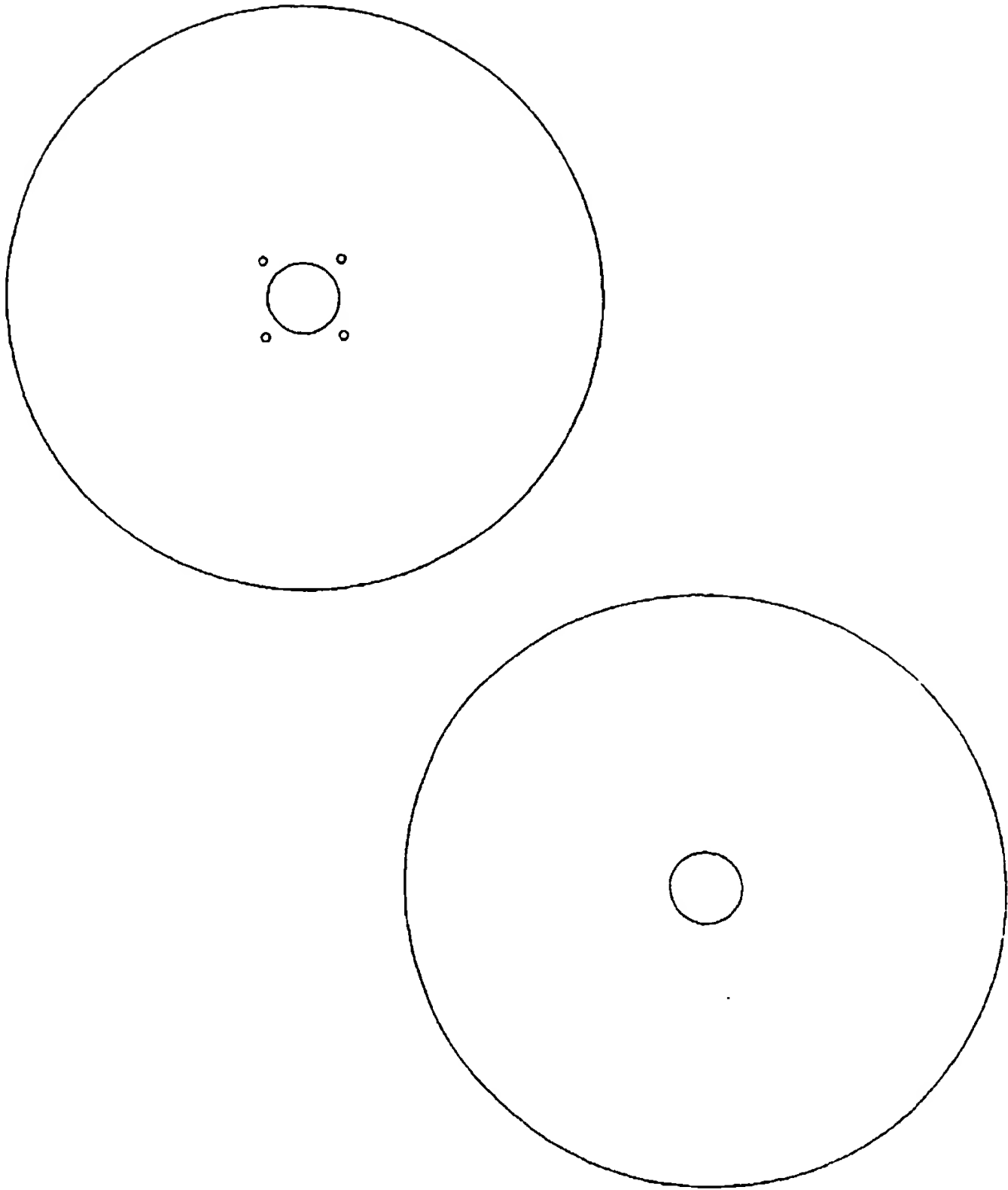


图 17C

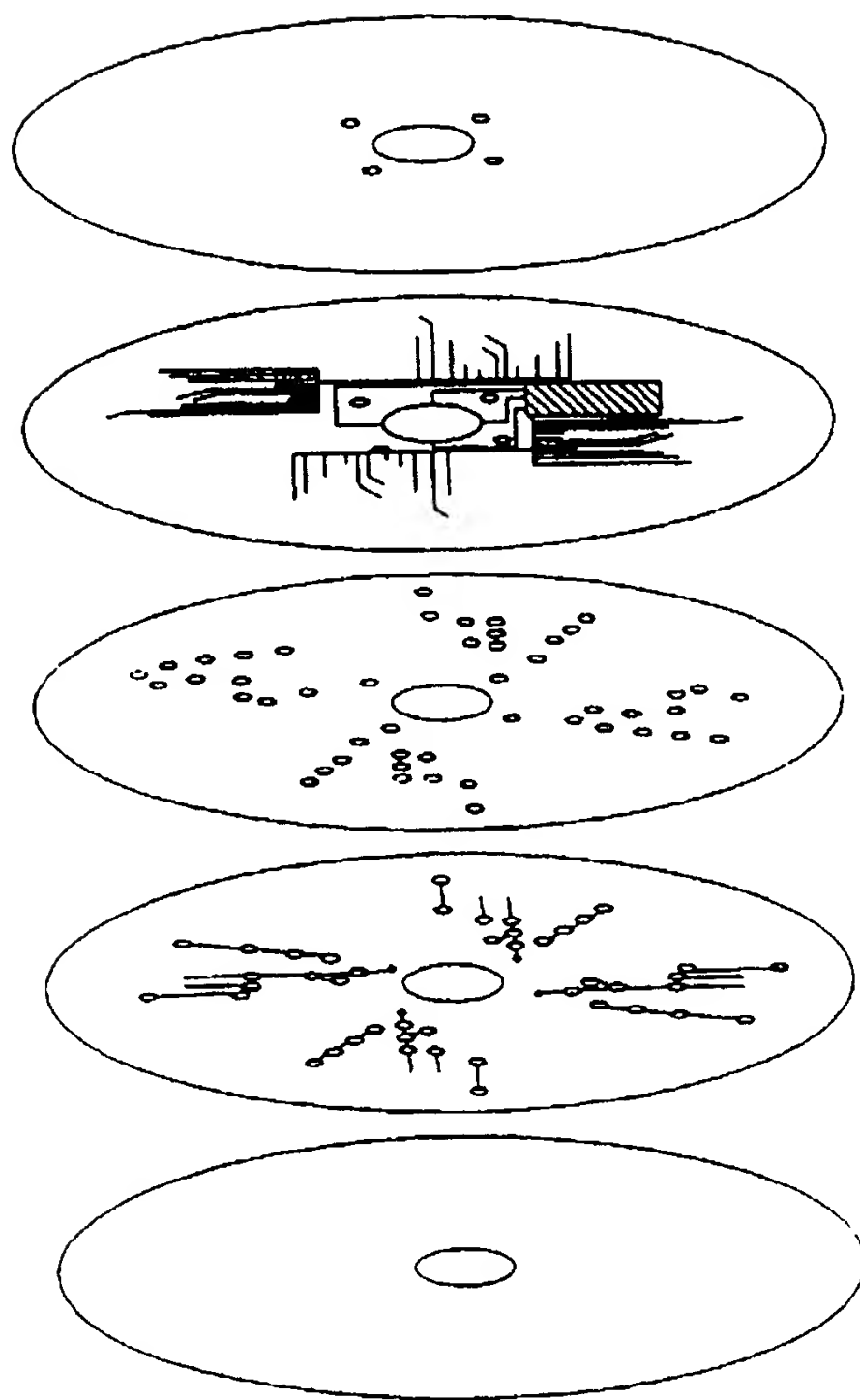


图 17D

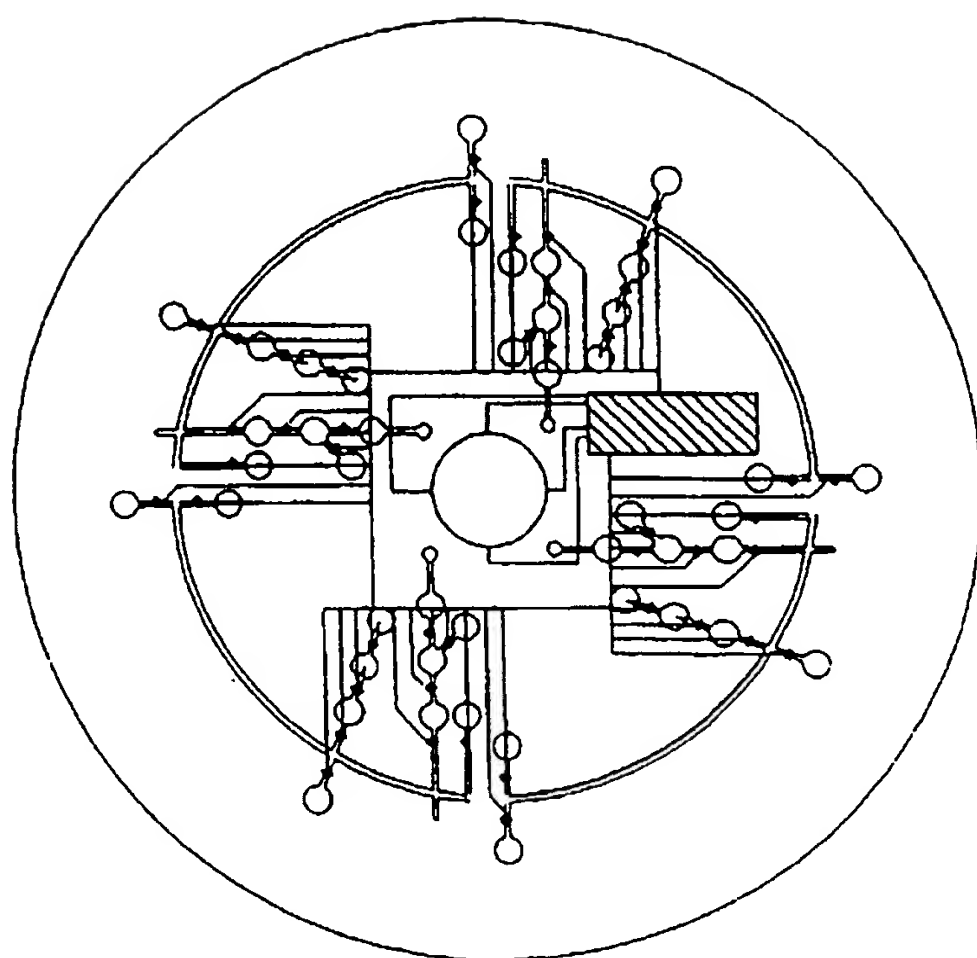


图 17E

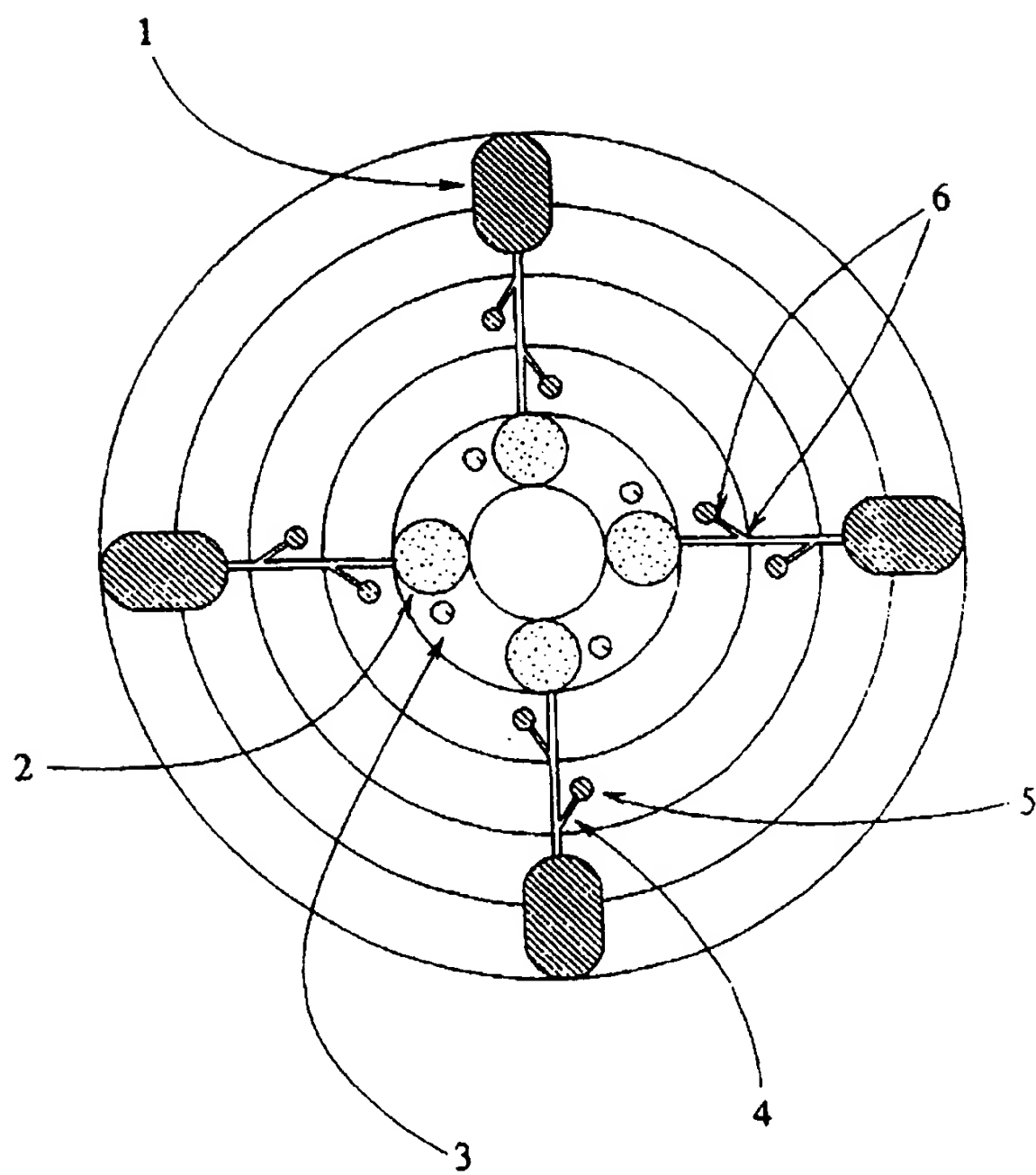


图 17F

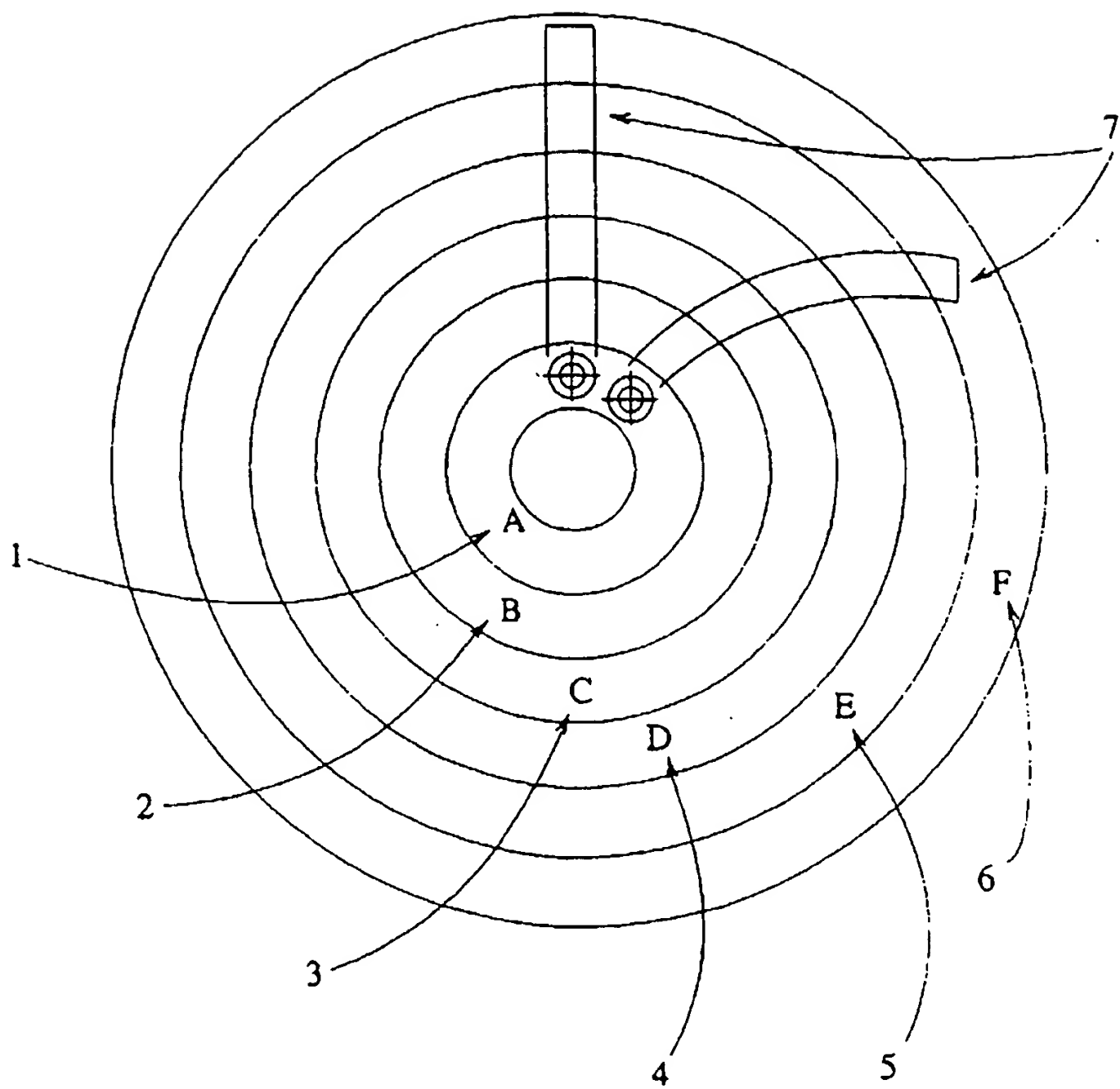


图 17G

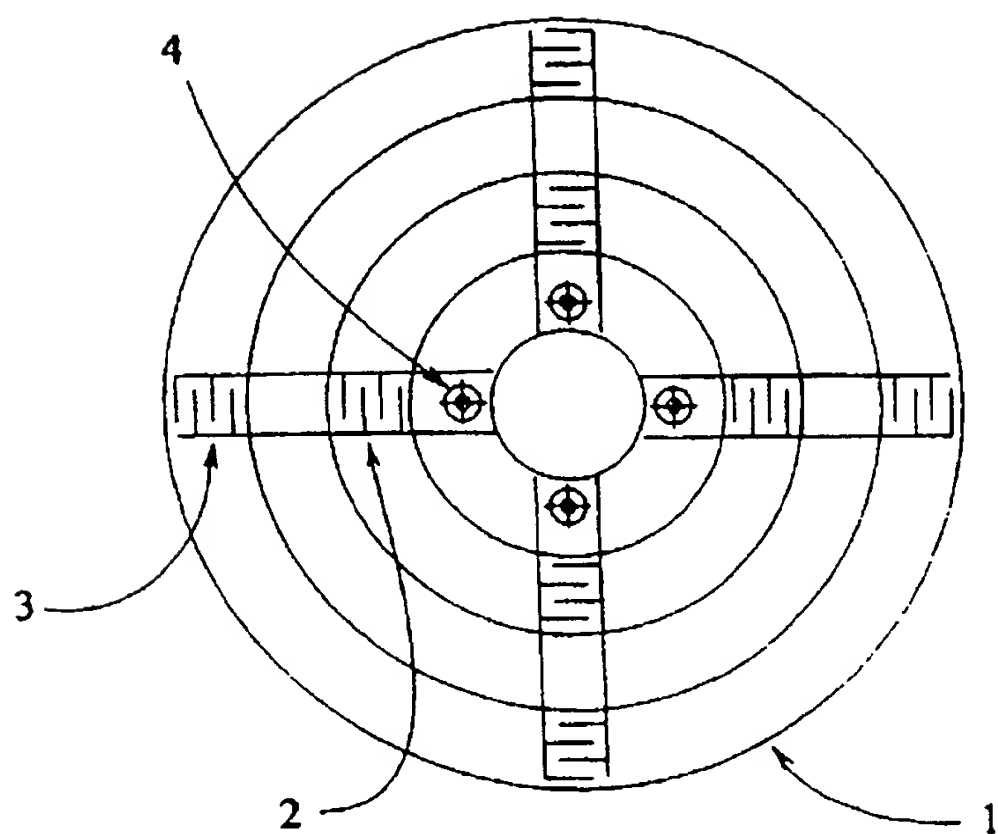


图 17H

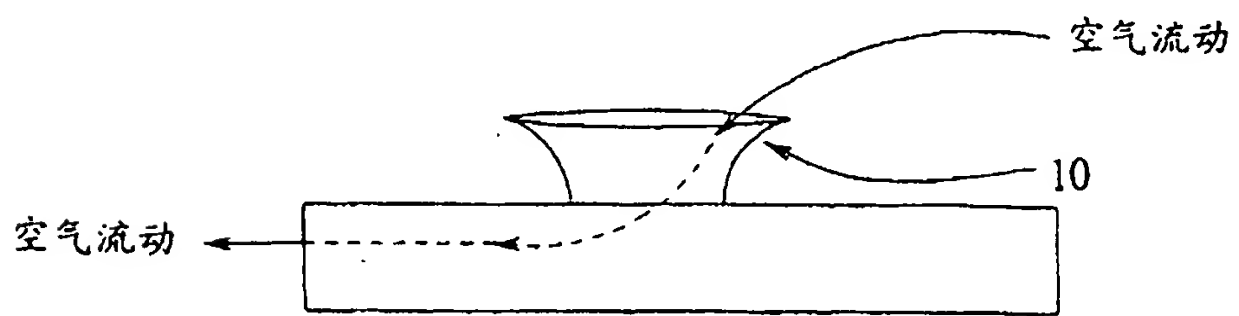
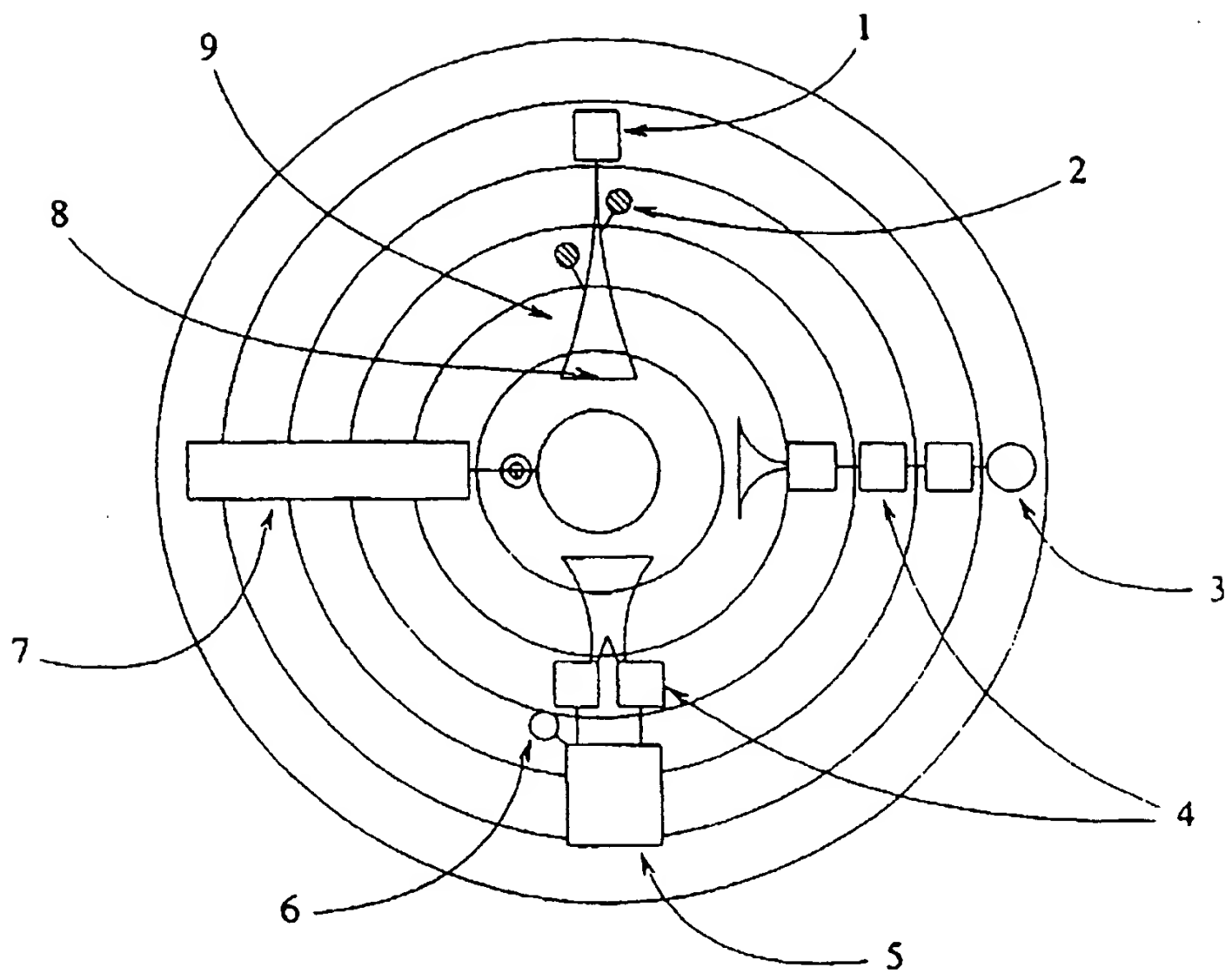


图 171

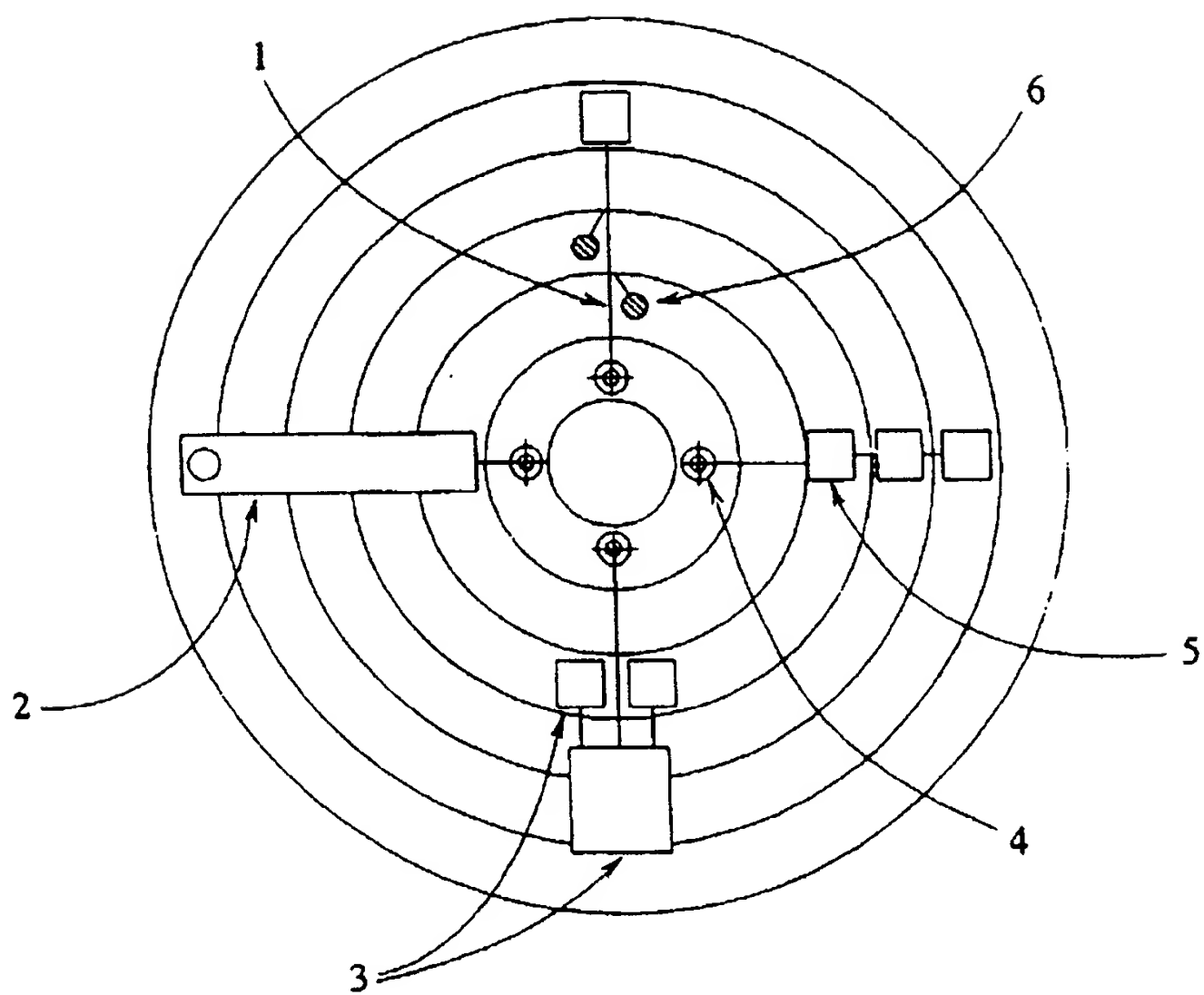


图 17J

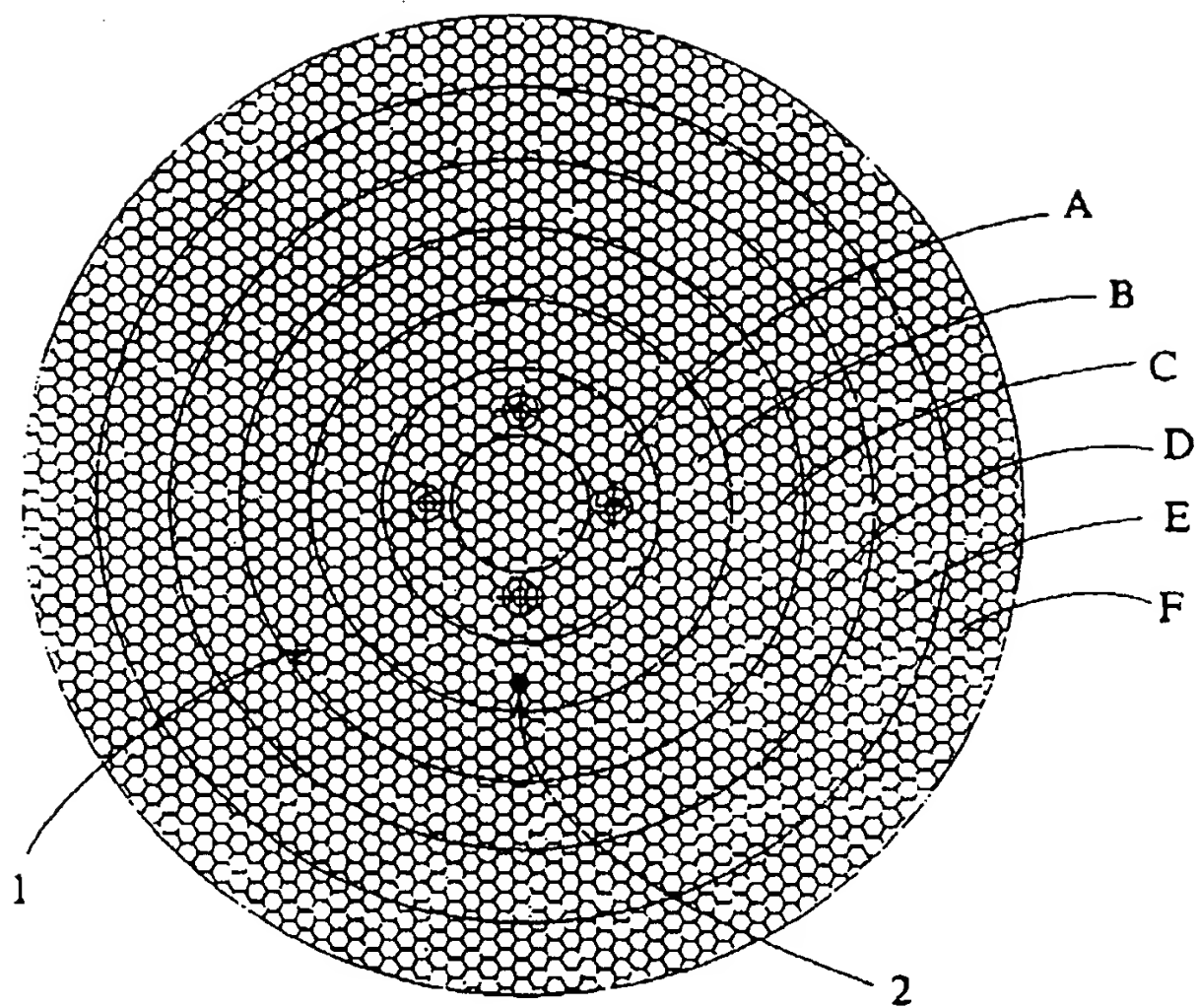


图 17K

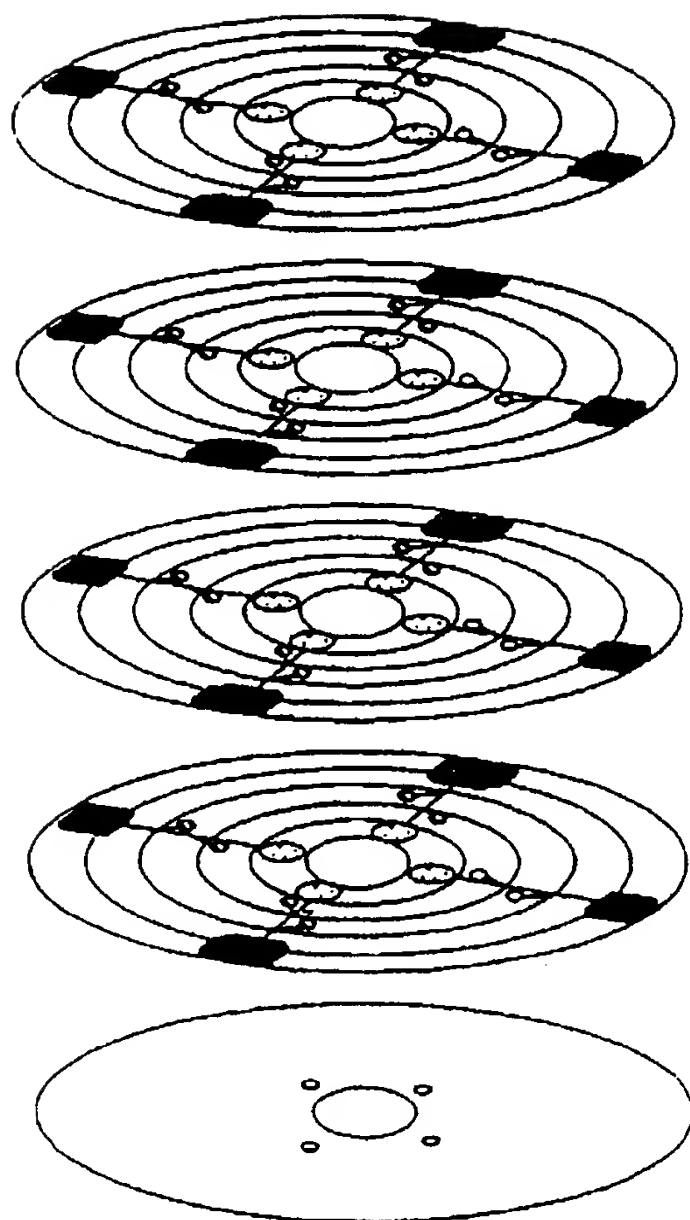


图 17L

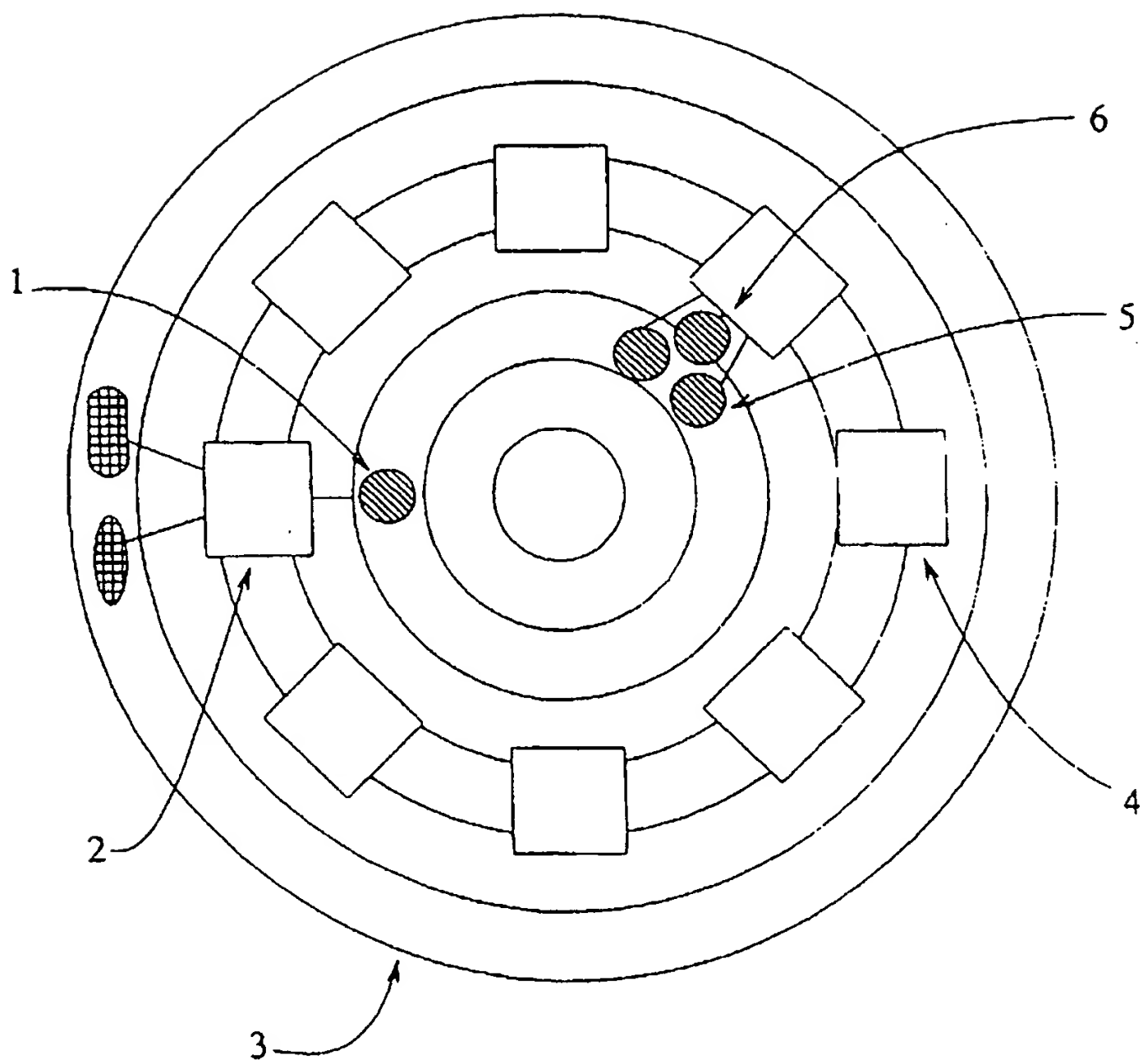


图 17M

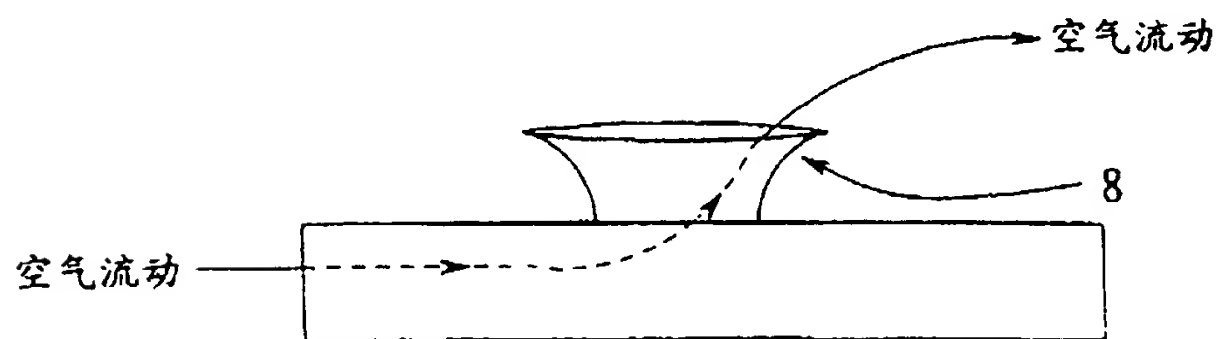
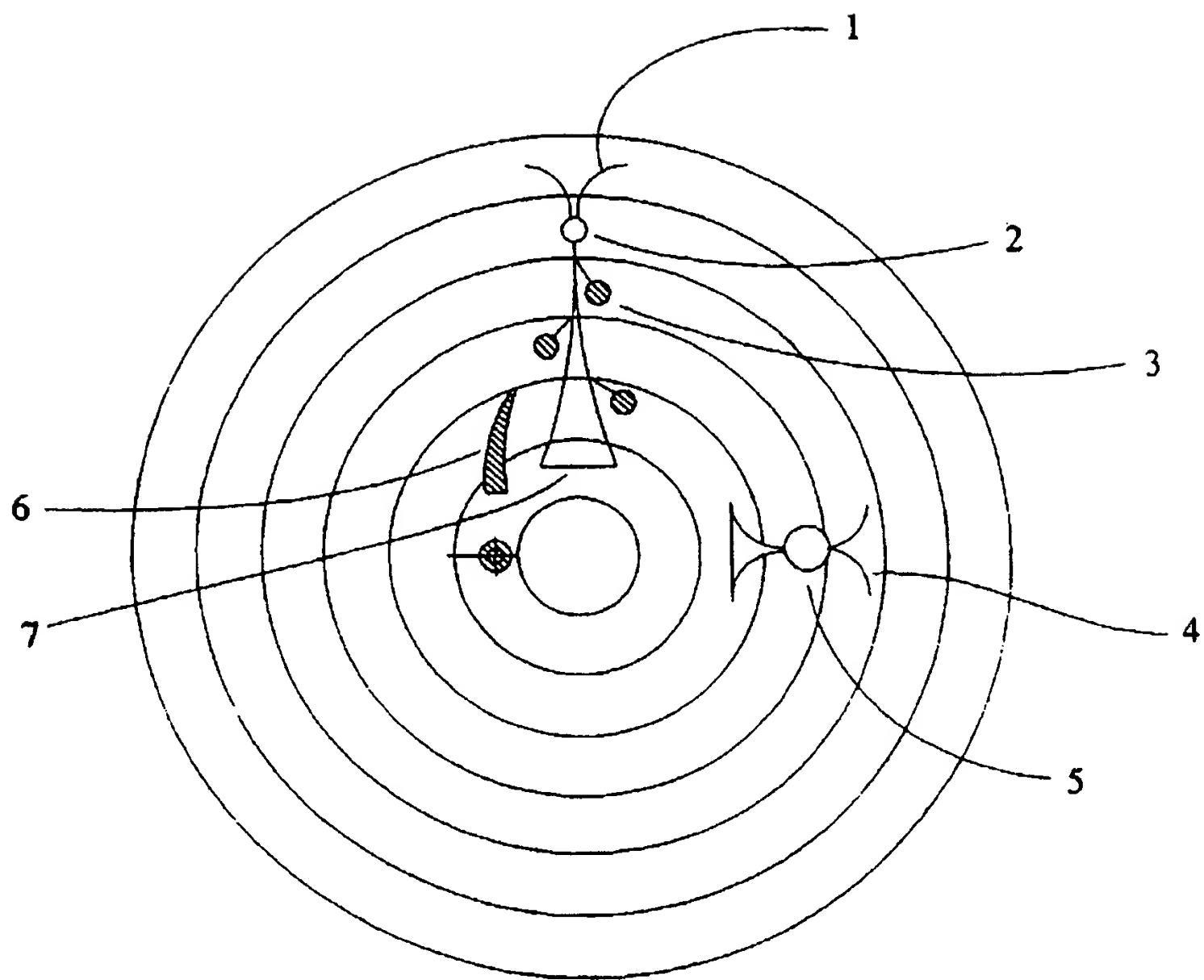


图 17N

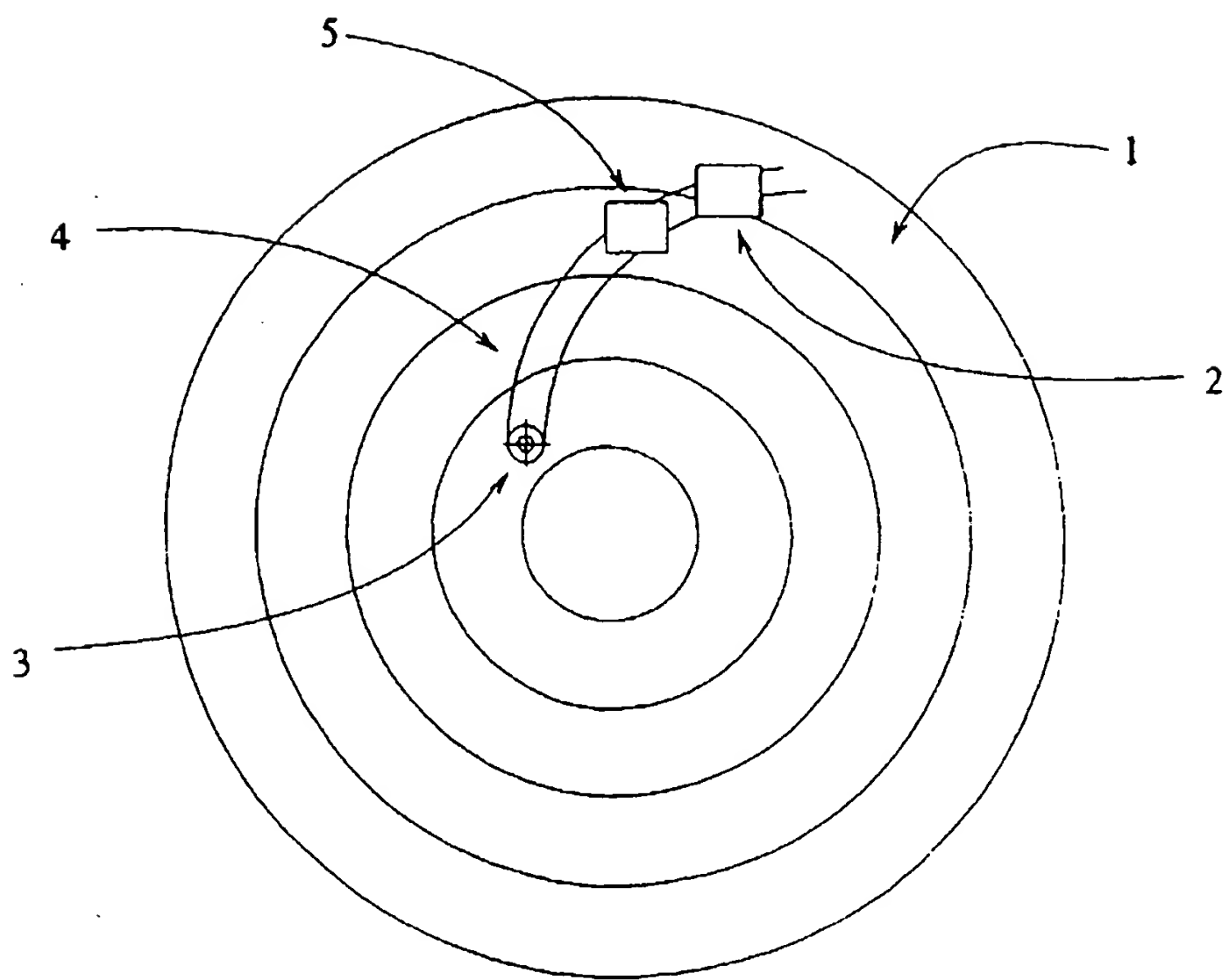


图 170

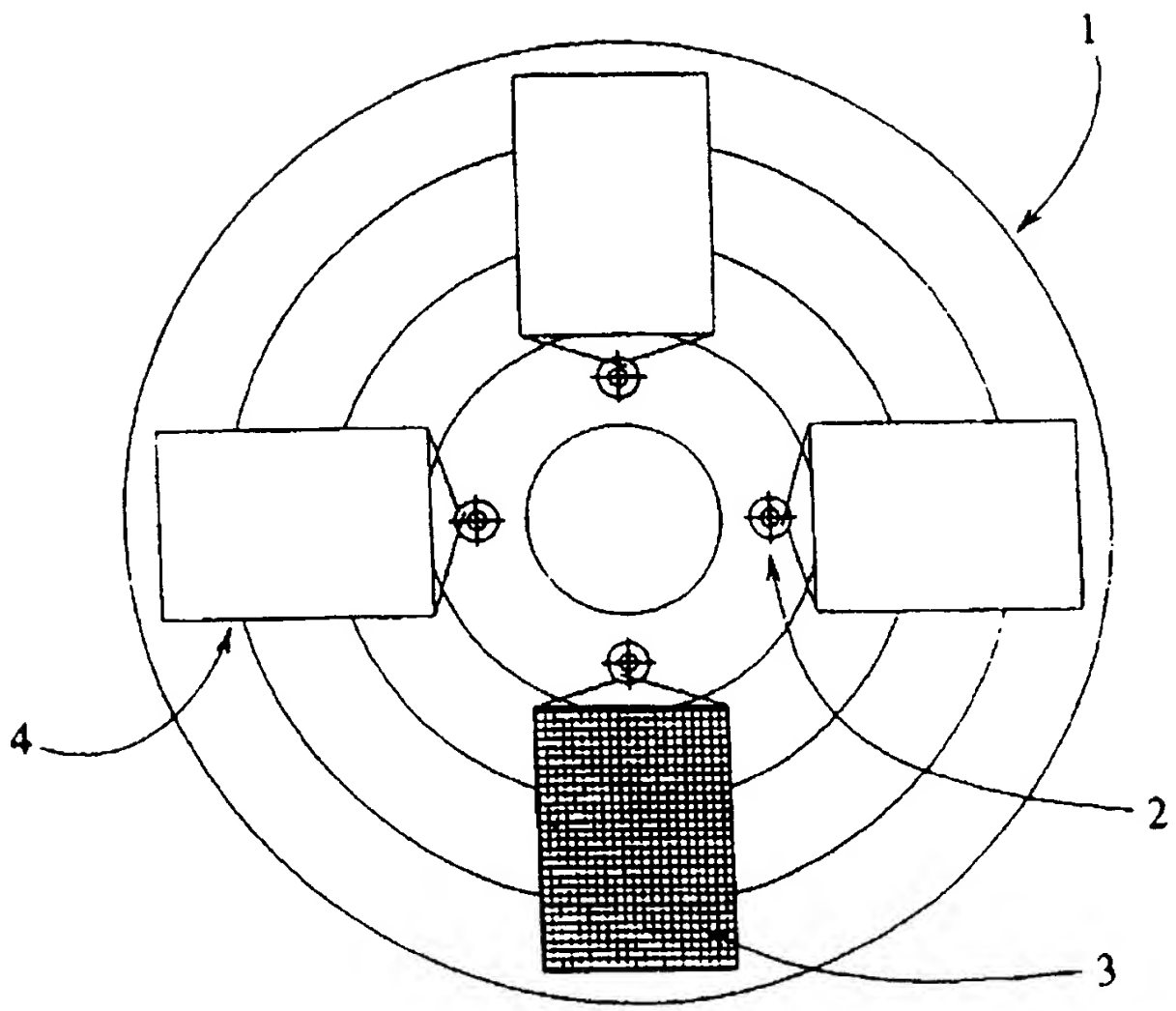


图 17P

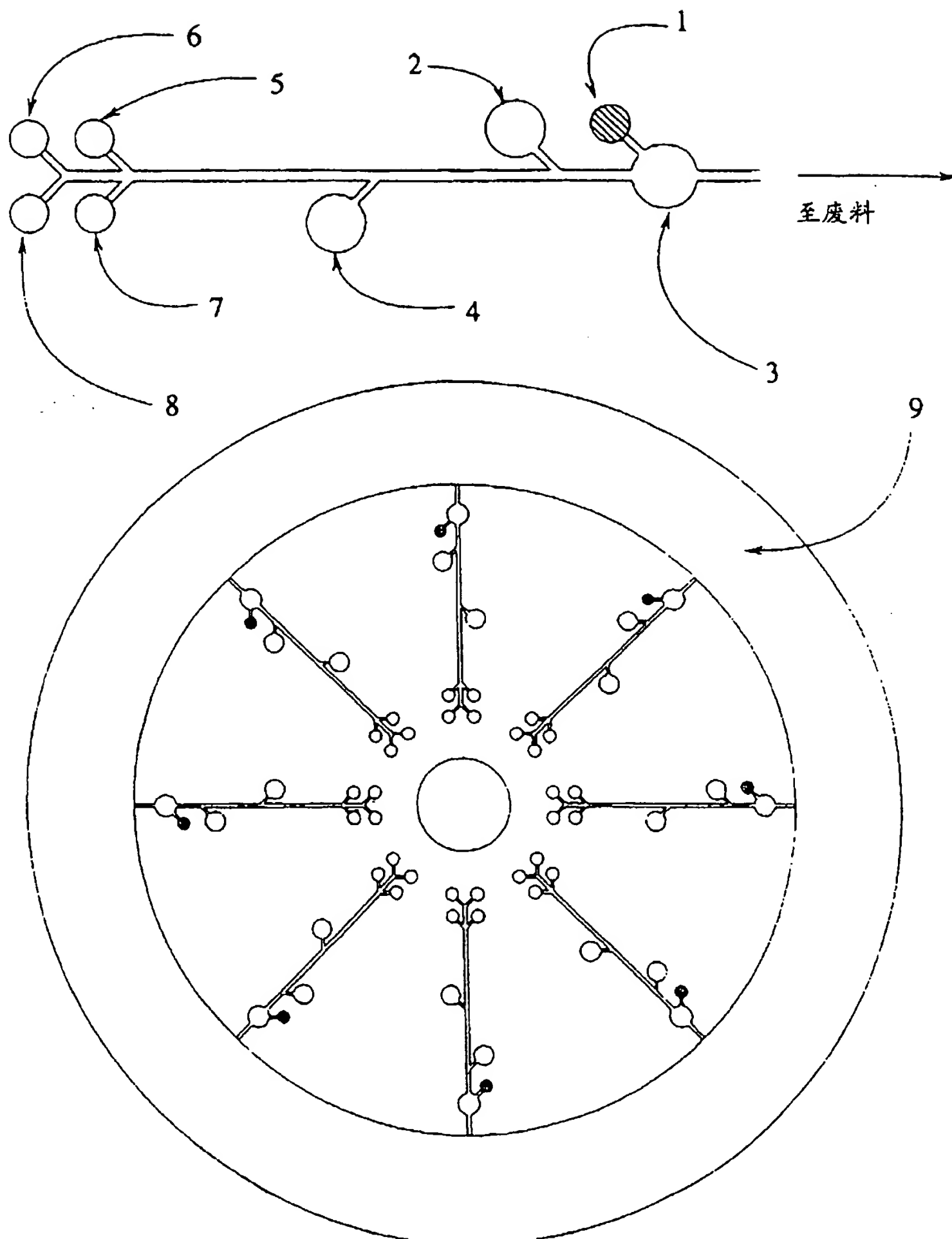


图 17Q

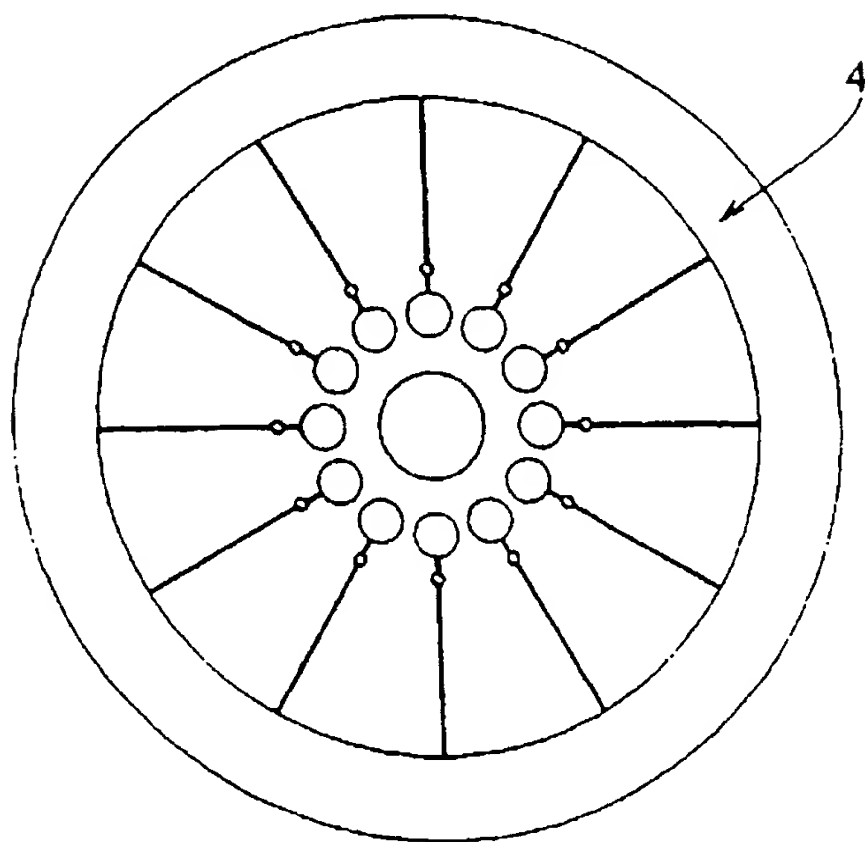
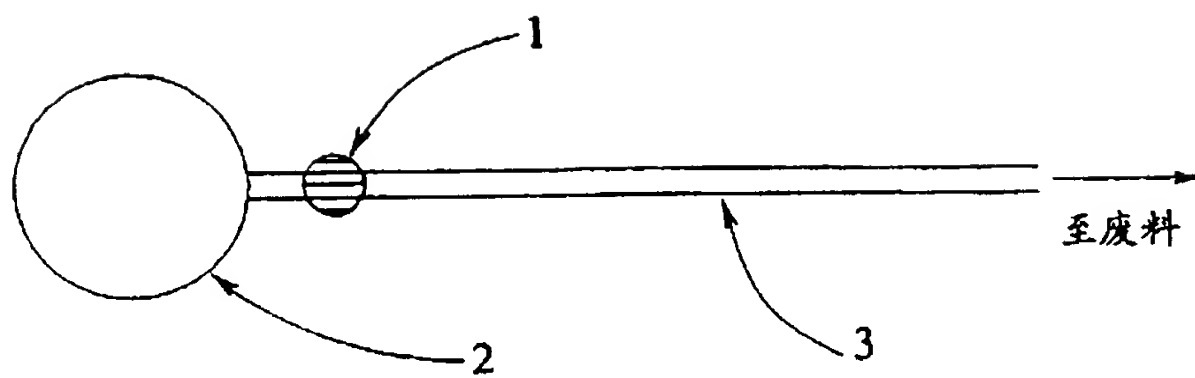


图 17R

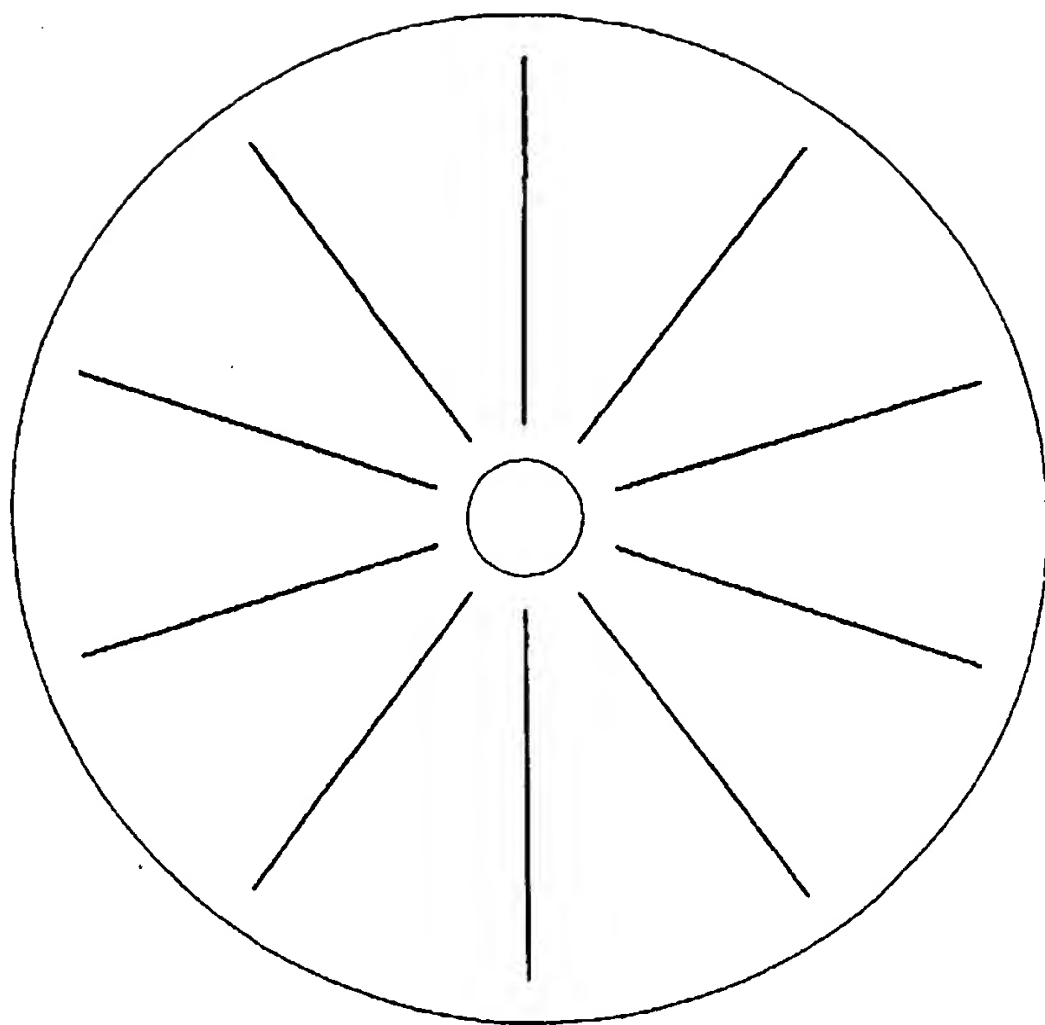


图 18

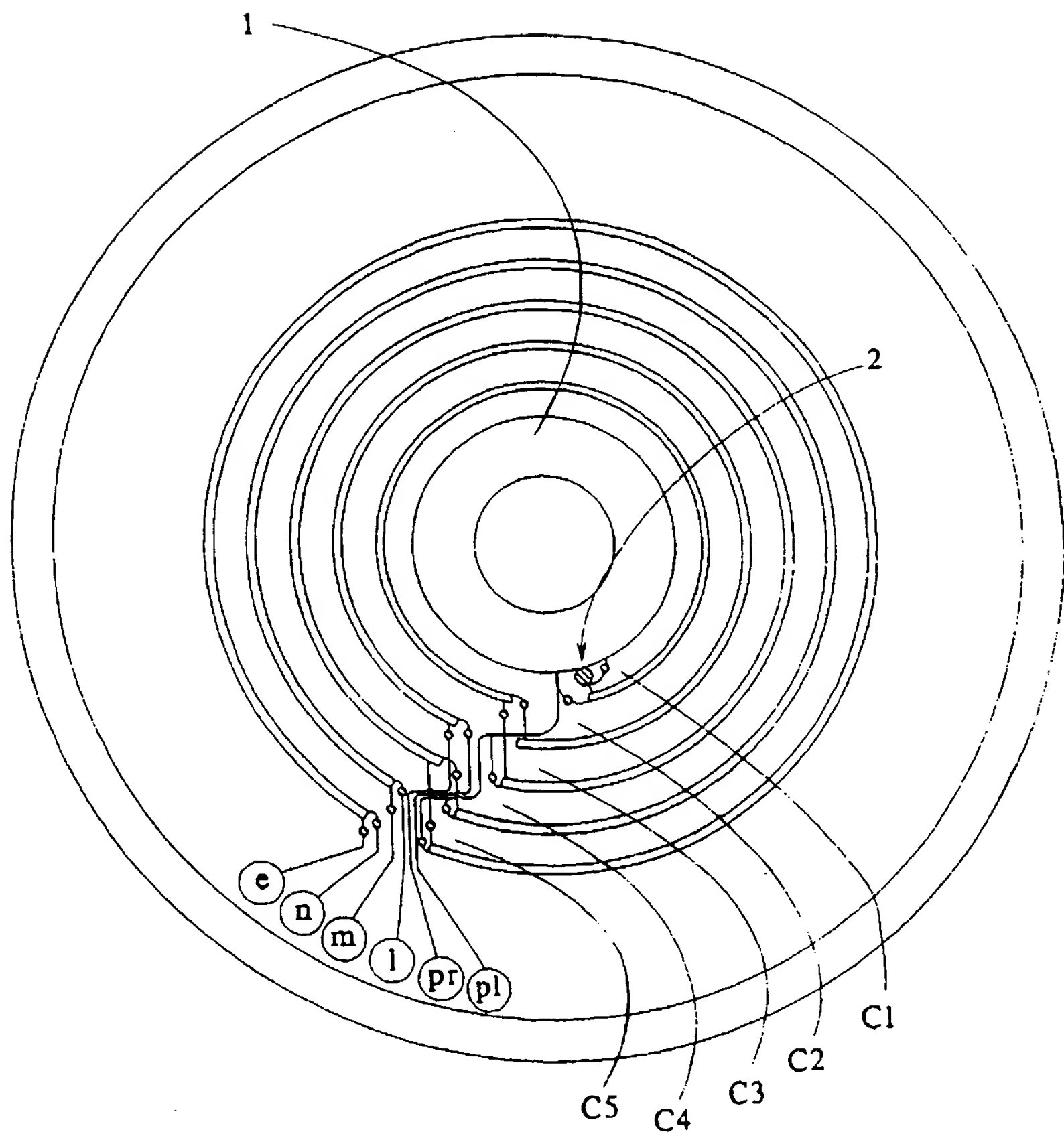


图 19

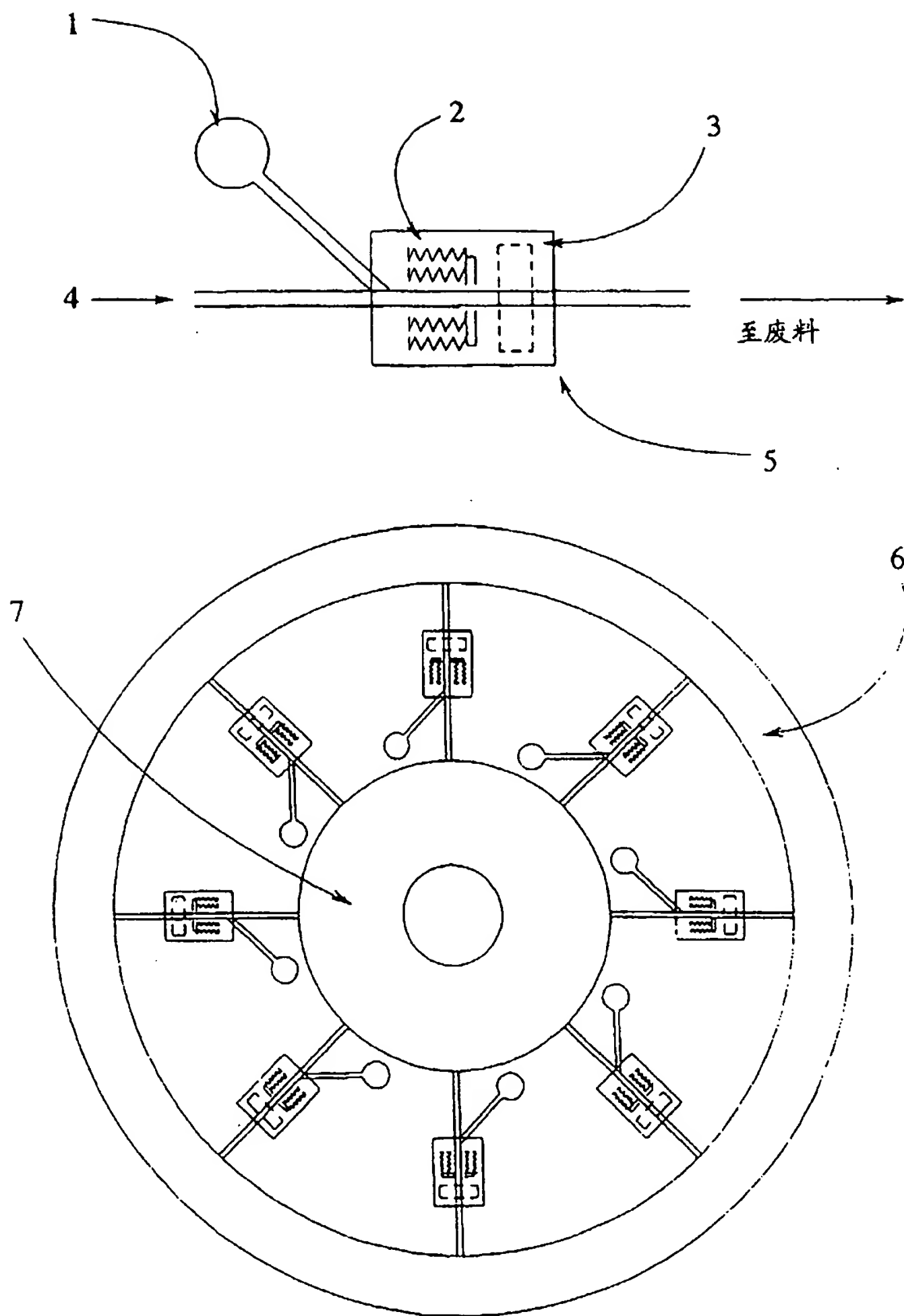


图 20

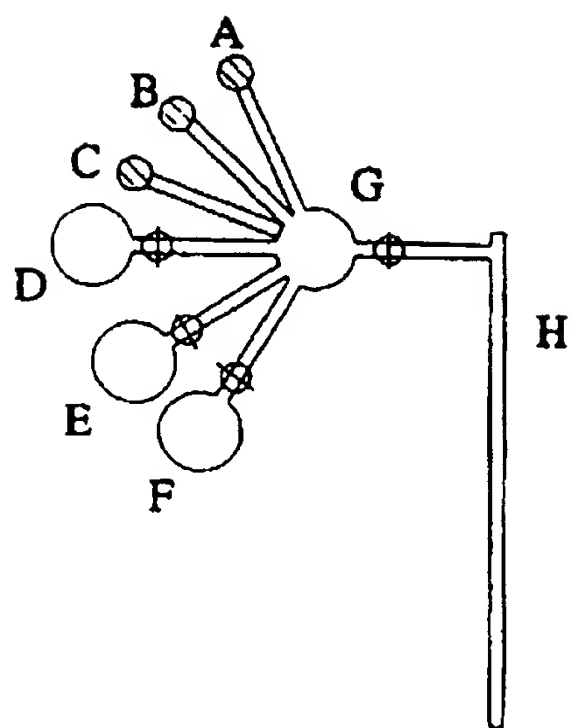


图 21

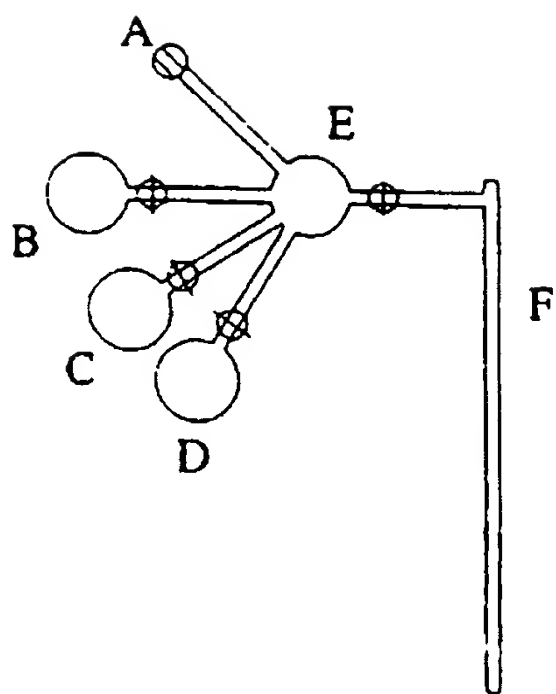


图 22

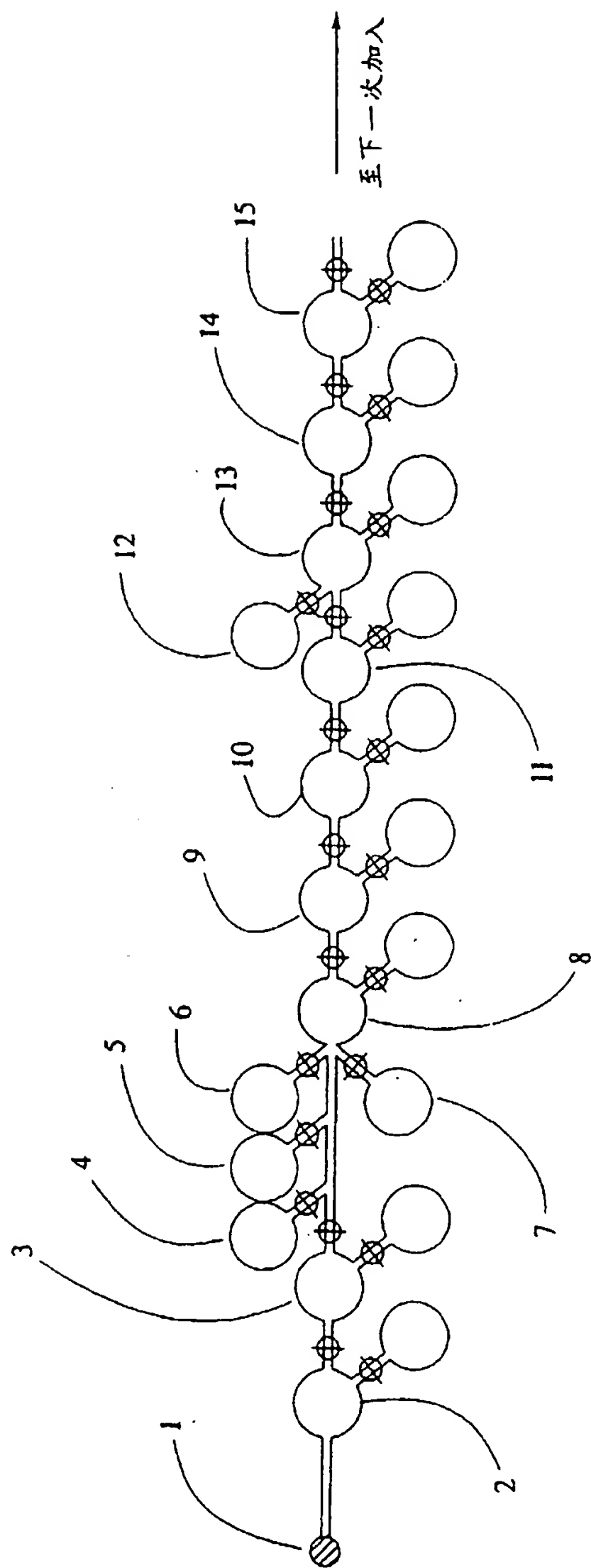


图 23A

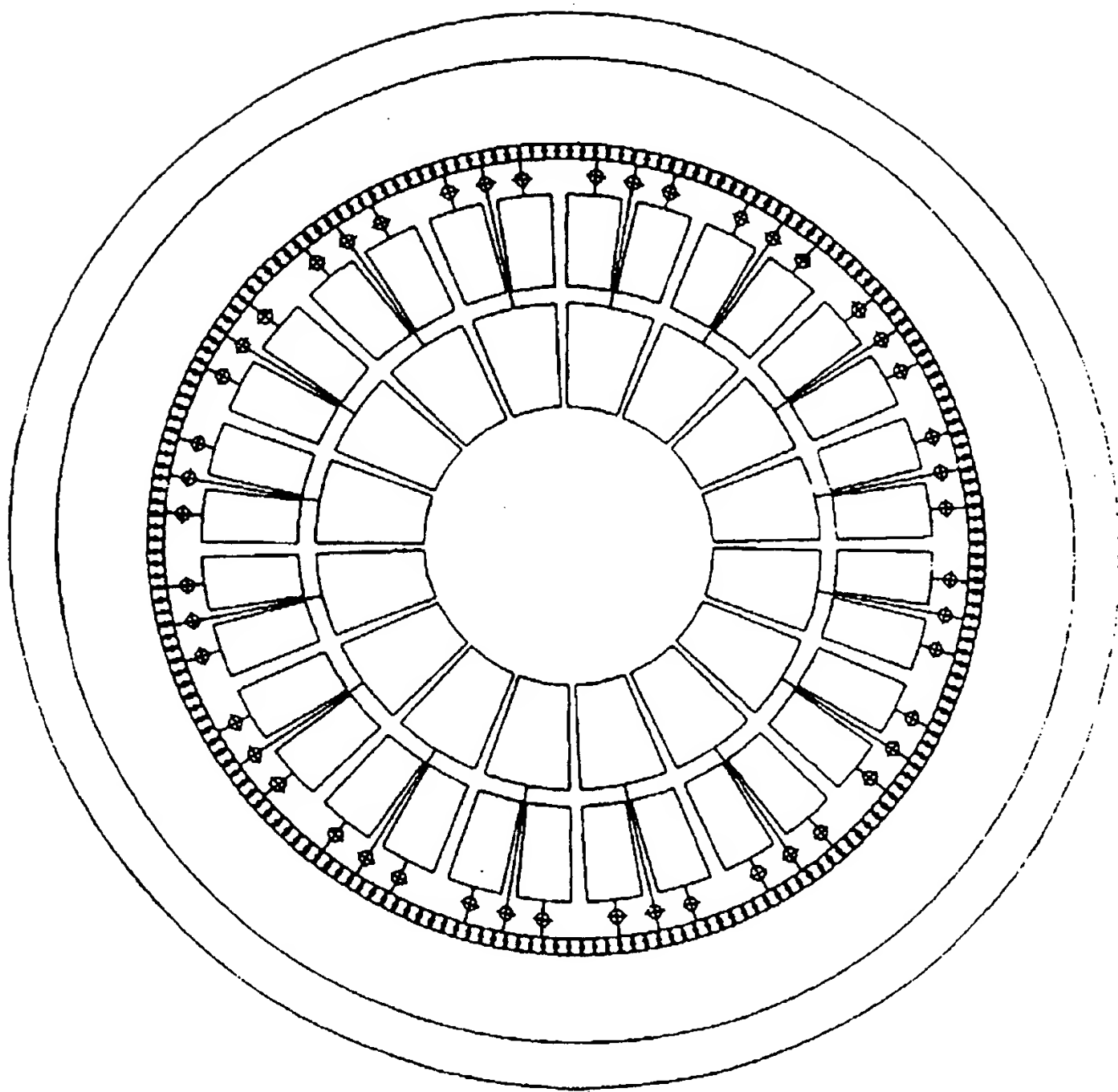


图 23B

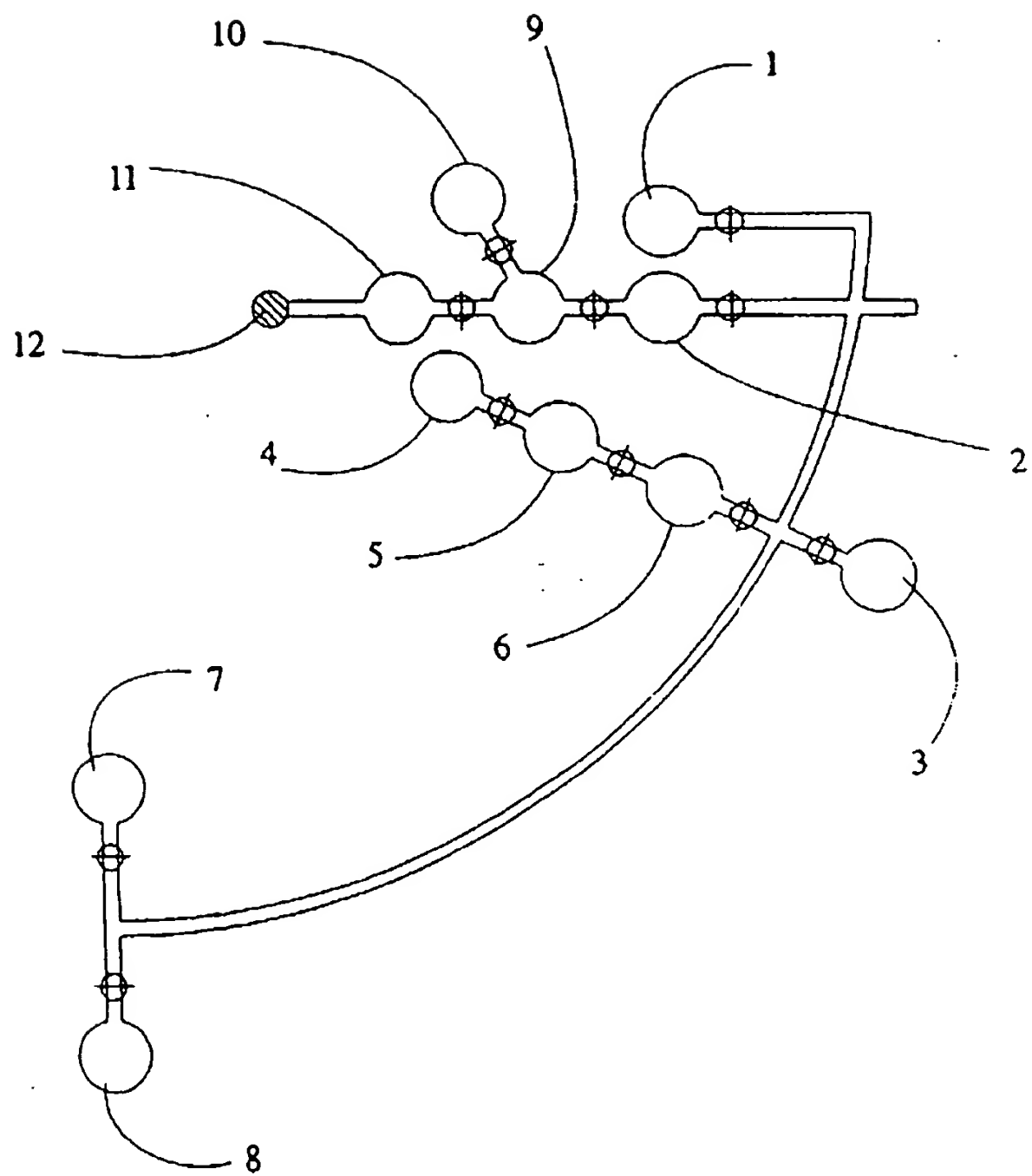


图 24

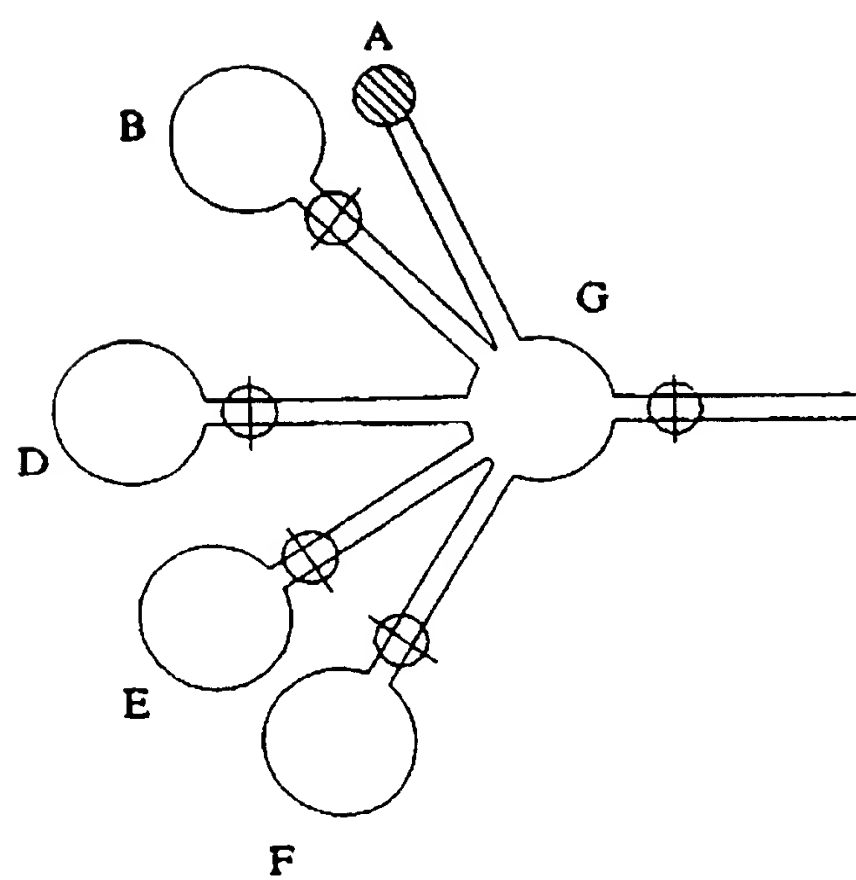
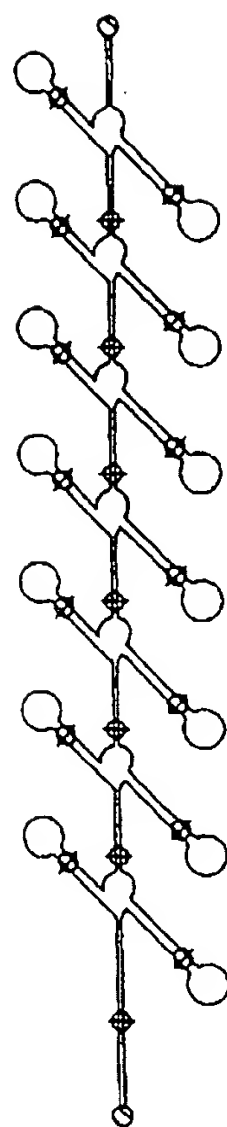


图 25



出口

图 26

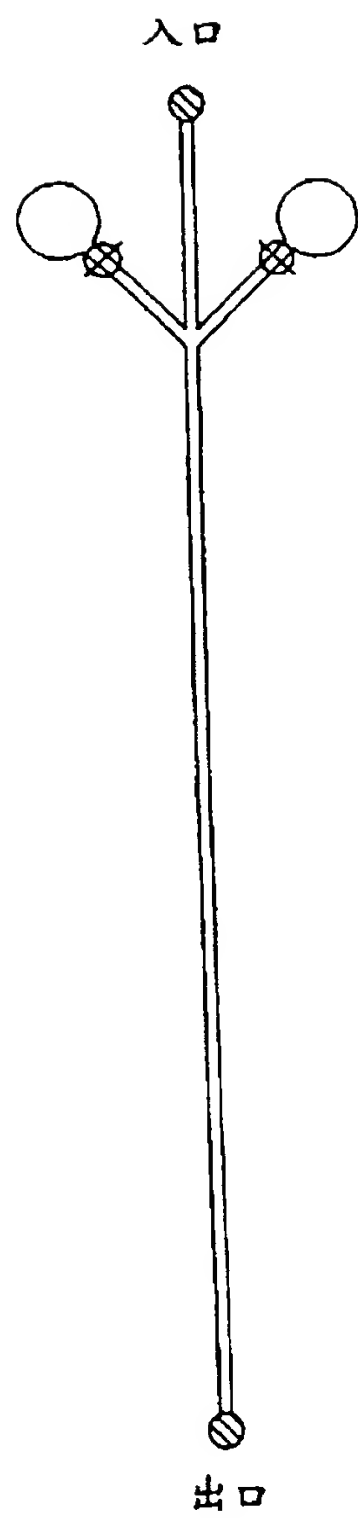


图 27

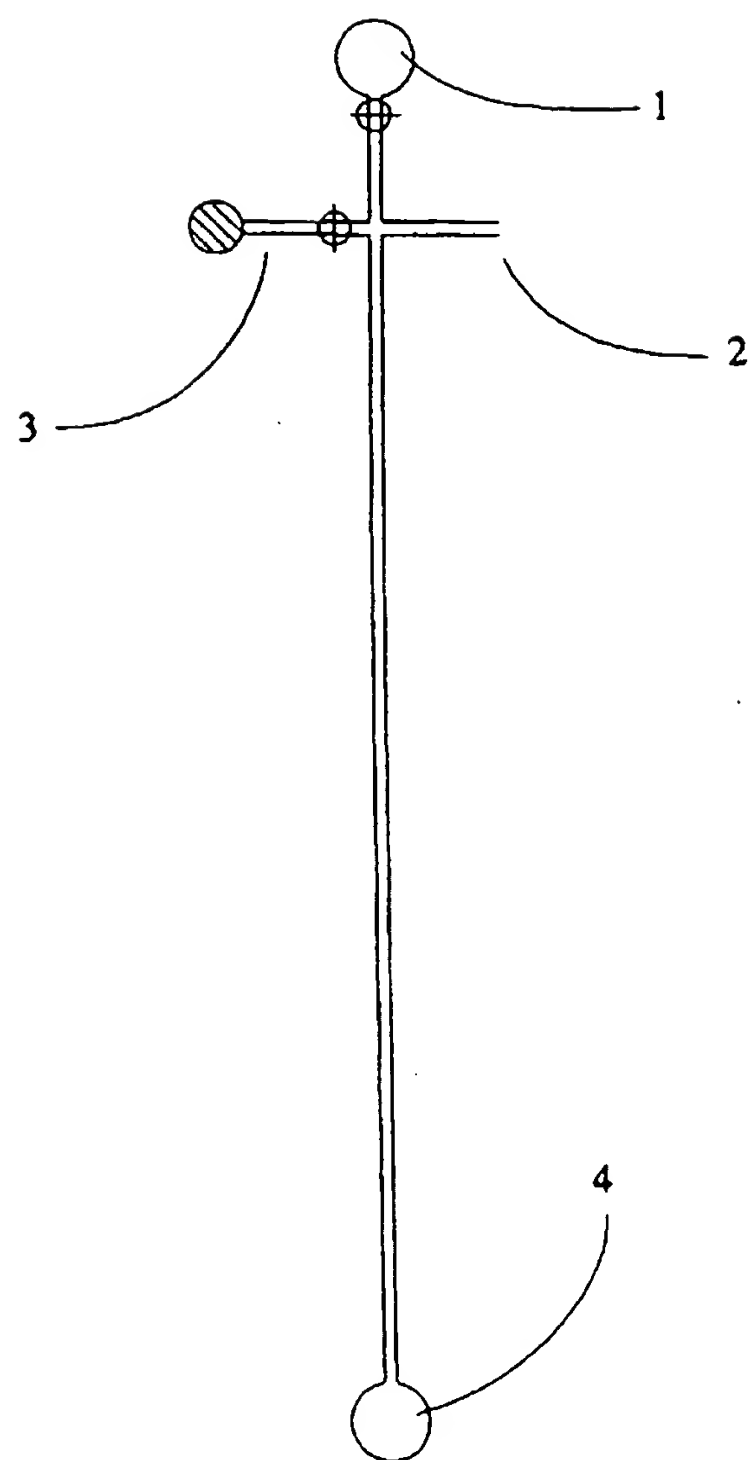


图 28

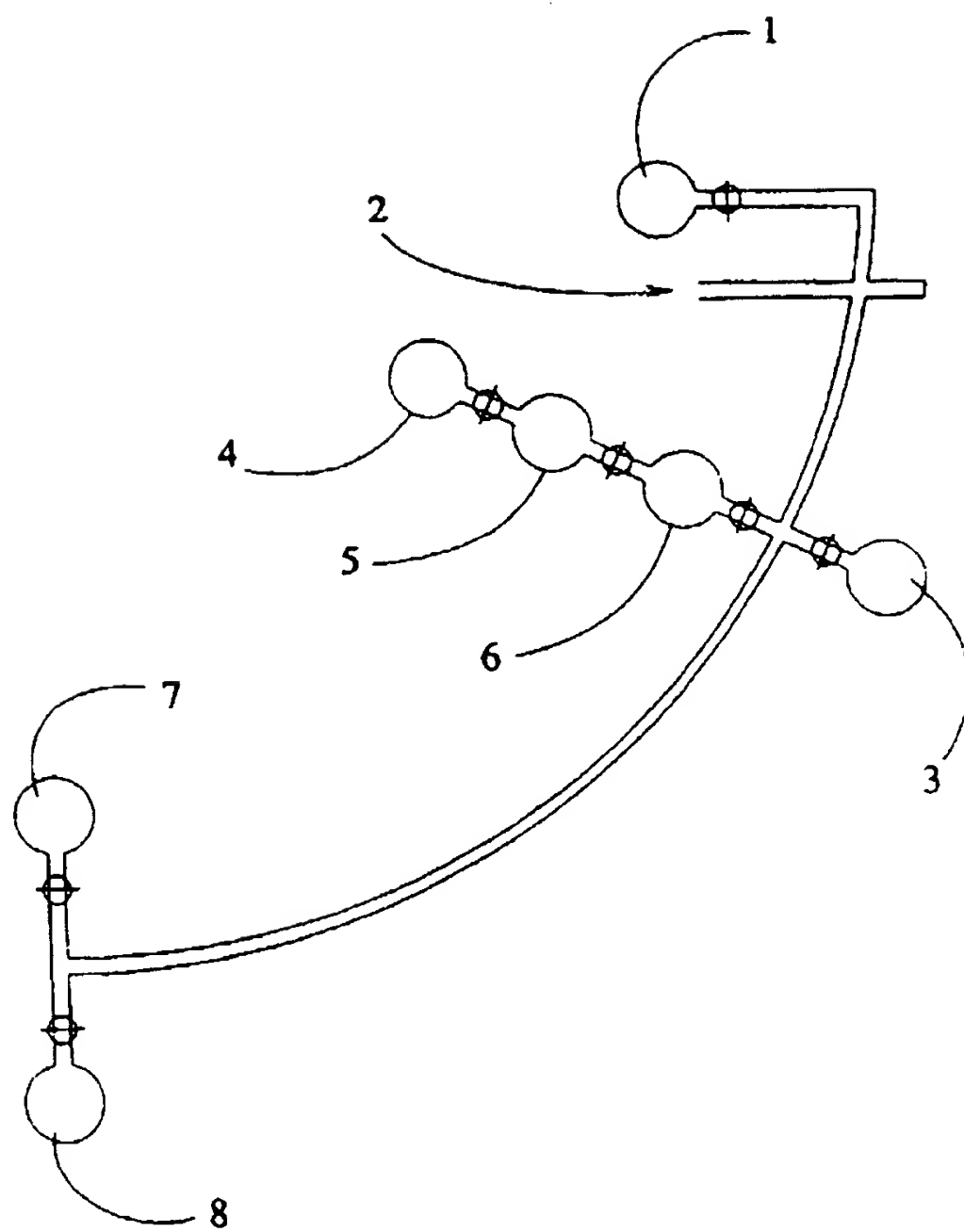


图 29

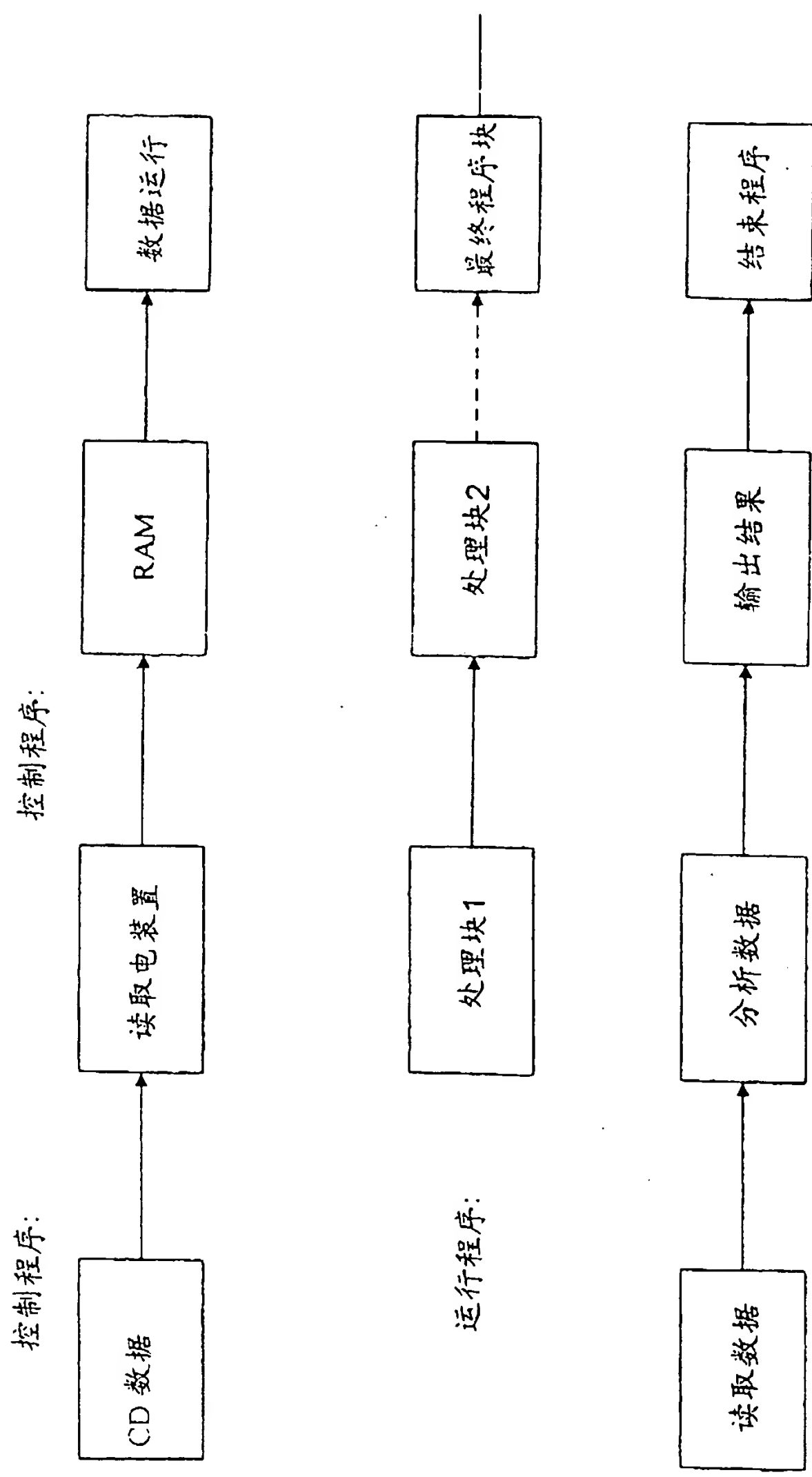


图 30

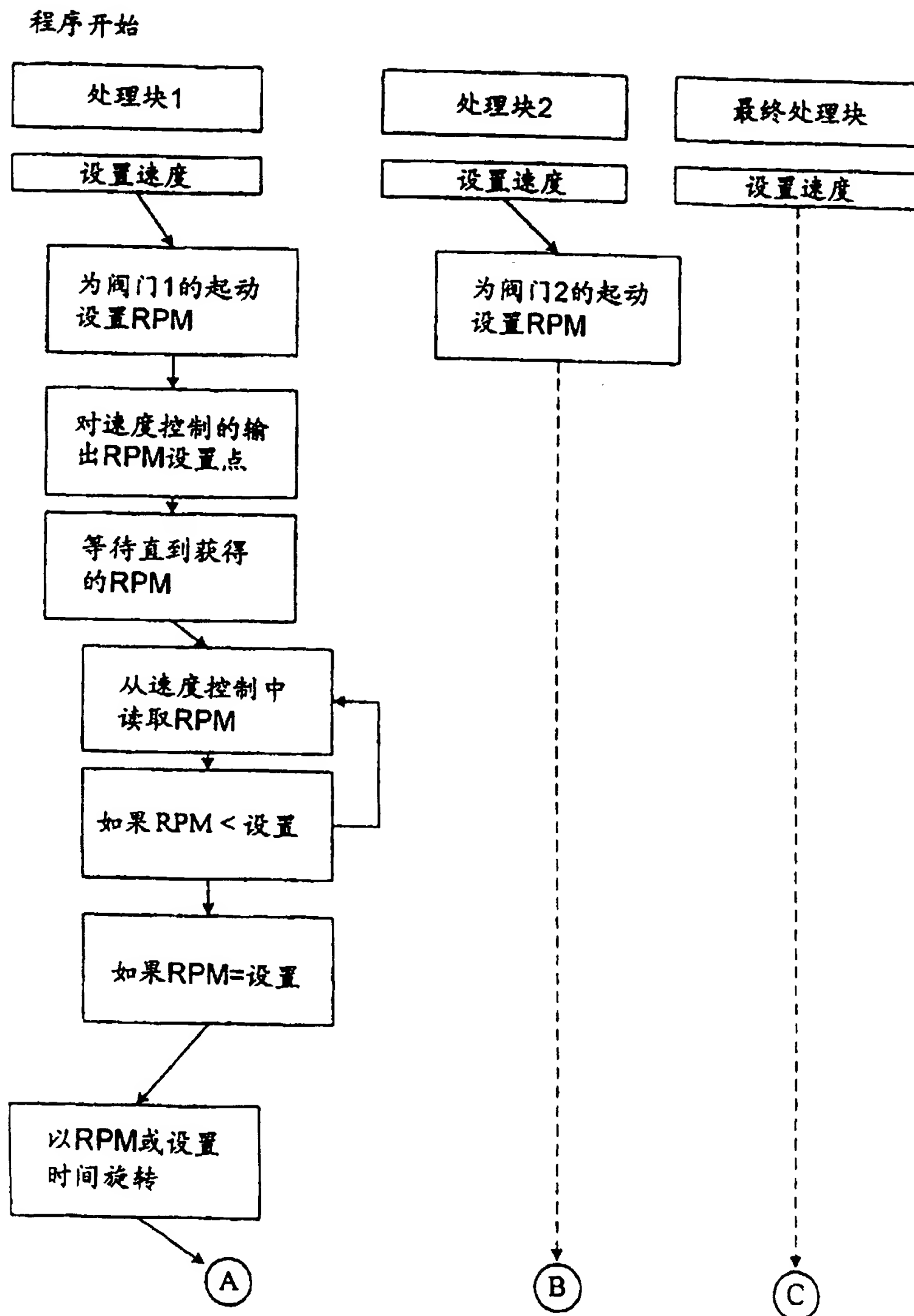


图 31A

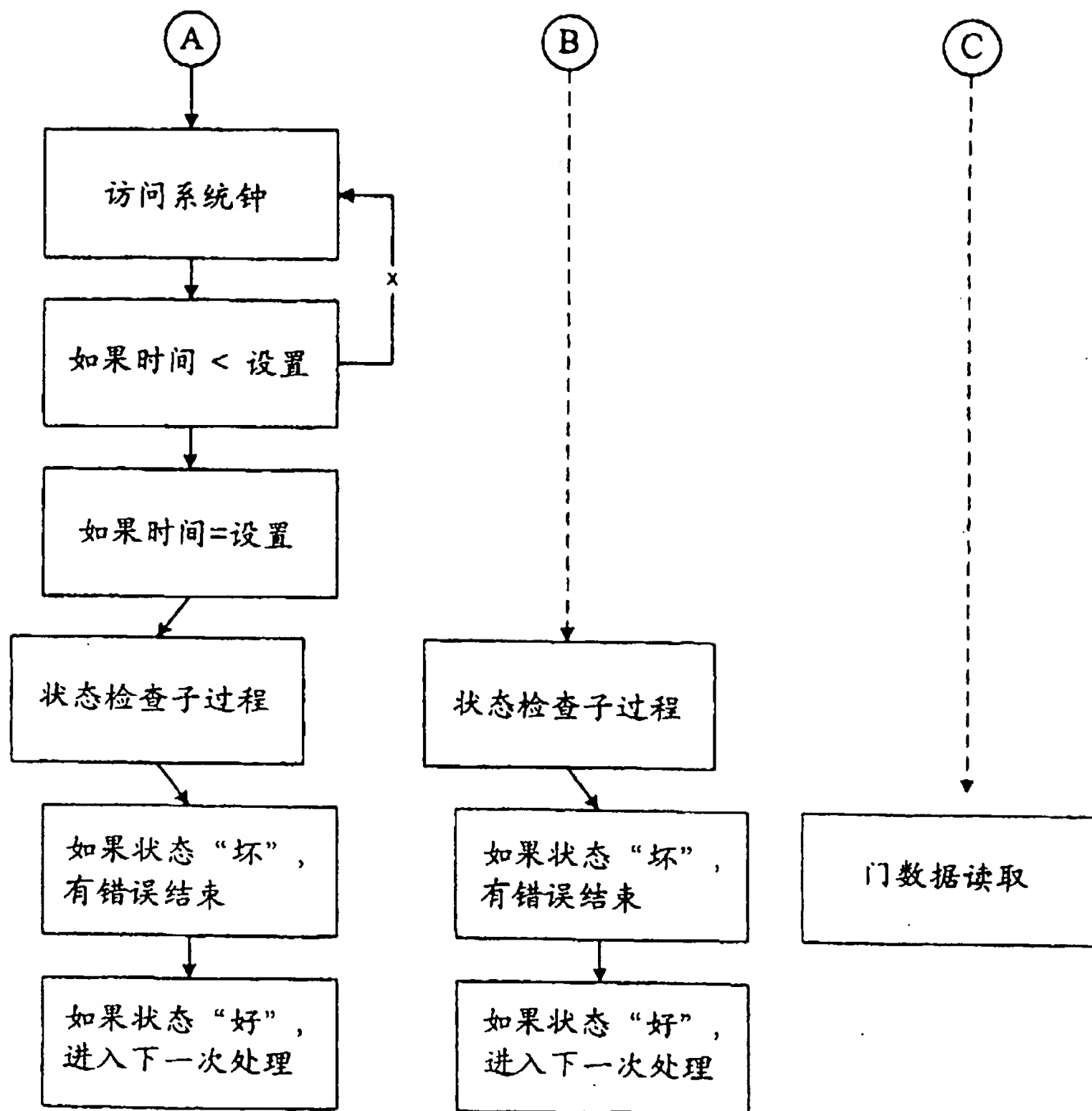


图 31B

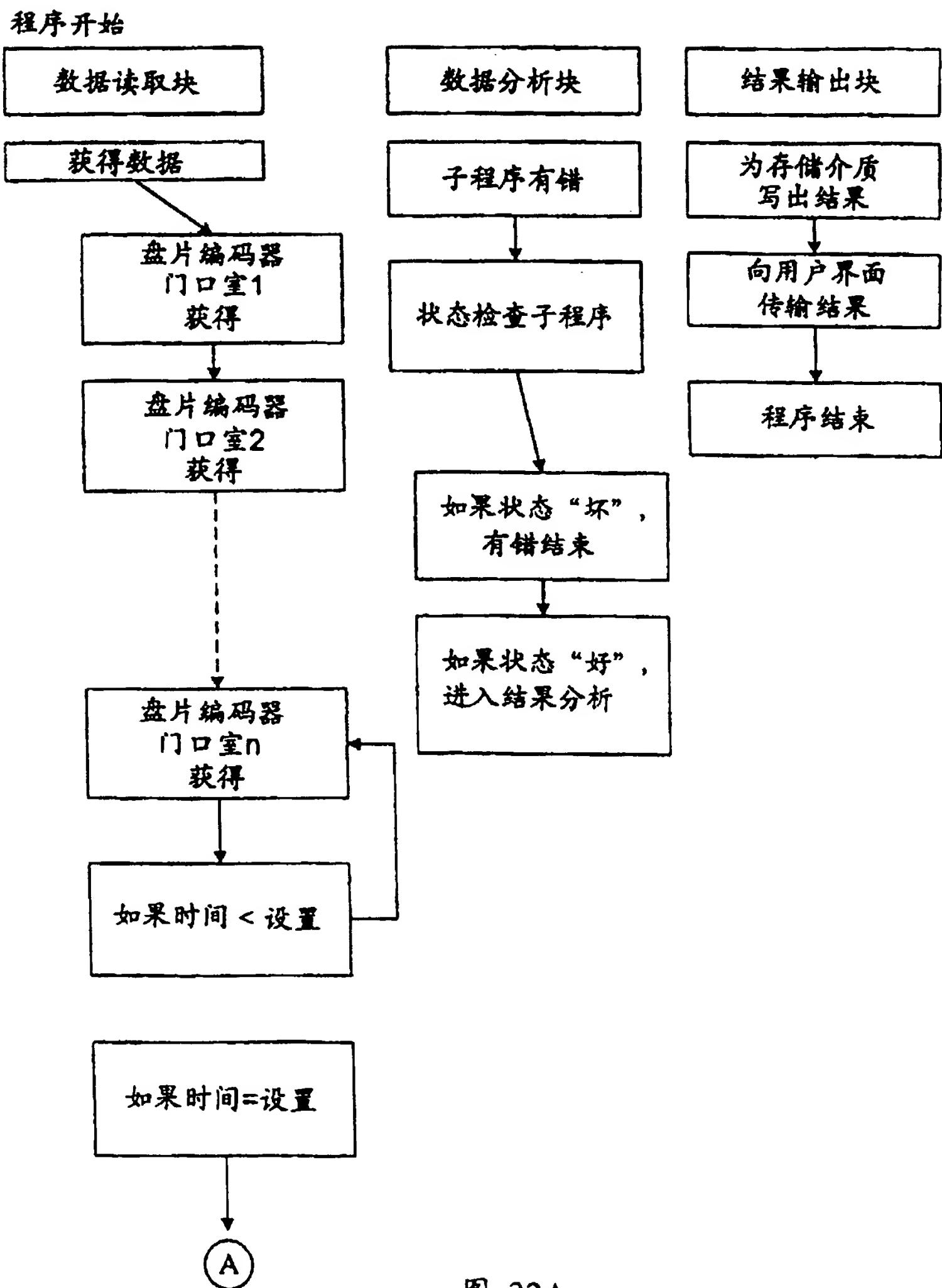


图 32A

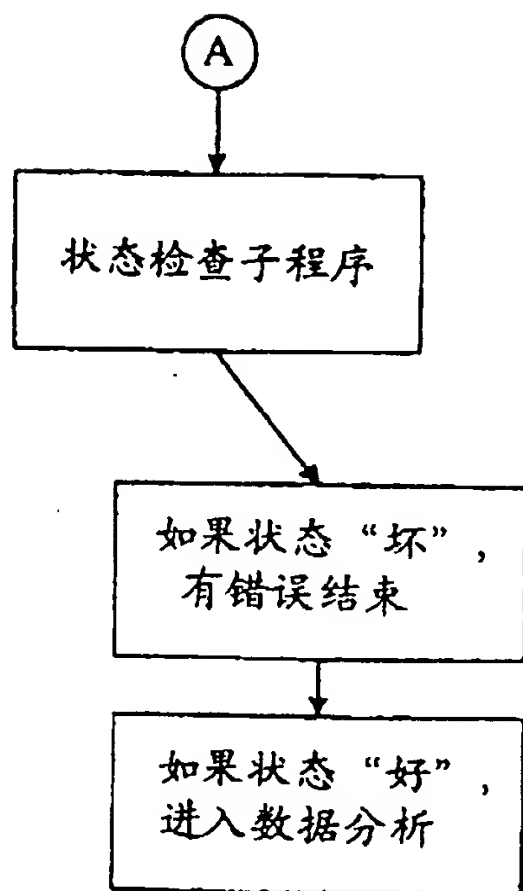


图 32B

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**